



**Universidade de
Aveiro**

Ano 2010

Departamento de Química

**Vera Lúcia Martins
Antunes**

**Análise de Amoníaco em Águas Utilizando um Sensor
Acústico**



**Universidade de
Aveiro**

Ano 2010

Departamento de Química

**Vera Lúcia Martins
Antunes**

Análise de Amoníaco em Águas Utilizando um Sensor Acústico

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Química Analítica e Controlo de Qualidade, realizada sob a orientação científica da Doutora Maria Teresa Seabra dos Reis Gomes, Professora Associada do Departamento de Química da Universidade de Aveiro.

Dedico este trabalho aos meus pais e avós maternos

o júri

Presidente

Professor João António Baptista Pereira Oliveira
Professor associado do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Doutora Maria Teresa Seabra dos Reis Gomes
Professora Associada do Departamento de Química da universidade de Aveiro

Doutora Maria Helena Figueiredo Godinho
Professora Auxiliar com Agregação do Departamento de Ciência dos Materiais da Universidade Nova de Lisboa

Agradecimentos

Agradeço a todas as pessoas que directa ou indirectamente contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho, em especial à minha orientadora, Doutora Maria Teresa Seabra dos Reis Gomes pelo apoio e motivação que me foi prestando ao longo do trabalho.

À Doutora Maria Graça Neves por me ter fornecido a porfirina para o meu trabalho e pela ajuda que sempre me concedeu ao longo do trabalho.

A nível pessoal queria agradecer aos meus colegas de Mestrado e em especial aos meus colegas de laboratório pela ajuda e pelos bons momentos que tornaram este percurso bem melhor.

Aos amigos que sempre me apoiaram ao longo de todo este tempo, principalmente nestes últimos meses que tiveram muito que aturar, o meu muito, mas mesmo muito obrigado!

E por último, e mais importante, quero agradecer aos meus pais, aos meus avós e ao meu irmão pelo apoio e por me terem dado esta oportunidade.

resumo

O amoníaco é produzido naturalmente a partir de fontes naturais ou antropogénicas. É bastante importante como micronutriente. A presença do amoníaco em excesso pode no entanto constituir um perigo potencial para os ecossistemas. Dai a necessidade de controlar as concentrações presentes nas águas. O amoníaco pode ainda acumular-se no corpo humano e outros organismos vivos com graves prejuízos para os mesmos.

Segundo o Decreto Lei n.º 236/98 de 1 de Agosto o método analítico de referência usado na determinação do amoníaco é a espectroscopia de absorção molecular, sendo o método do azul de indofenol o mais utilizado. Este oferece uma maior sensibilidade em relação a outras metodologias UV/Vis, apresentando contudo varias desvantagens, tais como morosidade e a utilização de numerosos reagentes, alguns deles muito tóxicos.

O objectivo principal deste trabalho foi o desenvolvimento de um novo método analítico, mais simples e barato, mas fiável, para a determinação do amoníaco em águas destinadas ao consumo humano.

Este novo método consiste num sensor baseado em microbalanças de cristais piezoelectricos de quartzo, para detectar o amoníaco no estado gasoso. Foi necessário alcalinizar as amostras de água e aplicar um revestimento no cristal para promover a interacção com o amoníaco, tendo-se seleccionado uma metaloporfirina para esse efeito. Verificou-se que a interacção com o amoníaco era rápida e completamente reversível, sendo o tempo de análise para cada amostra aproximadamente 2 minutos. Verificou-se que o sensor permite detectar concentrações tão baixas de amoníaco como $1,83 \mu\text{g L}^{-1}$ e quantificá-lo em concentrações desde $4,47 \mu\text{g L}^{-1}$

Comparando os resultados obtidos com o novo método do indofenol, verificou-se que não se detecta a presença de erros sistemáticos, concluindo-se que os resultados obtidos por ambos os métodos não são estatisticamente diferentes um do outro.

keywords

Ammonia, waters, blue indophenol, piezoelectric quartz crystal

abstract

Ammonia is produced both from natural and anthropogenic sources. It is important as a micronutrient, although in excess it is dangerous for the ecosystems. Therefore it is needed to control the ammonia content in the water.

According to the Portuguese legislation the reference analytical method used to determine ammonia is the molecular absorption spectroscopy and the blue indophenol method is the most used methodology. It offers a higher sensibility compared with other UV/Vis methodologies; however it suffers from some disadvantages. It is time consuming and uses numerous reagents, some of them very toxic.

In this work, a new methodology based on a quartz acoustic wave sensor for the determination of ammonia in freshwaters is reported.

This methodology is based on the use of a sensor to determine ammonia in the gaseous phase. It was necessary to increase the pH of the samples of water and to apply a sensitive coating to a piezoelectric quartz crystal. A metalloporphyrin was used to promote the interaction with the ammonia. This interaction was fast and fully reversible. An analysis could be performed in 2 minutes. A piezoelectric quartz crystal coated with an amount of porphyrin that induced a frequency decrease of 21.4 kHz could detect ammonia in concentrations as low as $1.83 \mu\text{g L}^{-1}$ and to quantify it in concentrations of $4.47 \mu\text{g L}^{-1}$.

Comparing the results obtained with the new methodology with the indophenol method, no systematic errors could be found ($\alpha = 0.05$).

Índice

1. Introdução Geral	1
2. Revisão Bibliográfica	5
2.1 – O Amoníaco: a origem e propriedades	7
2.2 – Métodos para a análise do Amoníaco	11
2.2.1 – Métodos Espectroscópicos	11
2.2.1.1 – Método do Azul de Indofenol	11
2.2.1.2 – Método de Nessler	13
2.2.1.3 – Fluorescência	13
2.2.2 – Sensores químicos	14
2.2.2.1 – Método Potenciométrico	14
2.2.2.2 – Sensores Ópticos	14
2.2.2.3 – Sensores de Condutividade	15
2.3 – Microbalanças de Cristais de Quartzo	16
2.3.1 – Definição e breve história da piezoelectricidade	16
2.3.2 – Cristais piezoelectricos de quartzo	16
2.3.3 – Sensor baseado em cristais piezoelectricos de quartzo	20
2.3.4 – Vantagens e desvantagens das microbalanças	22
2.3.5 – Revestimento Aplicado	23
3. Instrumentação, Arranjo e Procedimento Experimentais	27
3.1 – Recolha das Amostras e Preservação	29
3.2 – Método do Azul de Indofenol	30
3.2.1 – Reagentes, Material e Equipamento	30

3.2.2 – Procedimento	32
3.3 – O sensor	34
3.3.1 – Reagentes, Material e Equipamento	34
3.3.2 – Revestimento do Cristal	35
3.3.3 – Descrição da aparelhagem e montagem experimental .	36
3.3.4 – Procedimento	38
4. Resultados e Discussão	39
4.1 – Reversibilidade, Sensibilidade e Estabilidade do Sensor	41
4.2 – Análise das Amostras	44
4.3 – Análise dos Interferentes	45
4.4 – Resultados Obtidos na análise das Amostras pelos dois métodos	47
4.5 – Vantagens do novo método em relação ao método do Azul de Indofenol	50
5. Conclusão	51
6. Bibliografia	55
7. Anexo I	63

Índice de Tabelas

Tabela 2.1 – Parâmetros físico-químicos do amoníaco	9
Tabela 3.1 – Reagentes utilizados para o método do Indofenol	31
Tabela 3.2 – Reagentes utilizadas para o método do sensor	34
Tabela 4.1 – Equações de calibração do sensor ΔF (Hz), $[\text{NH}_3](\mu\text{g/L})$	43
Tabela 4.2 – Concentração de amoníaco encontrada para cada uma das amostras	48
Tabela 4.3 – Resultados obtidos do teste F , para cada amostra analisada	49

Índice de Figuras

Figura 2.1 – Ciclo do Azoto	8
Figura 2.2 – Equilíbrio entre o NH_3 – NH_4^+	10
Figura 2.3 – Reacções de Berthelot	15
Figura 2.4 – Efeito piezoeléctrico no quartzo	17
Figura 2.5 – Estrutura cristalina do cristal de quartzo com os respectivos eixos	17
Figura 2.6 – Cristais piezoeléctricos de quartzo	18
Figura 2.7 – Cortes AT e BT da estrutura cristalina de quartzo	19
Figura 2.8 – Representação da onda que se propaga através do material perpendicularmente às faces do cristal piezoeléctrico de quartzo	19
Figura 2.9 – Exemplo de uma resposta obtida a uma determinada massa injectada	21
Figura 2.10 – Representação da estrutura da metaloporfirina, Mn (TPFPP)Cl	23
Figura 2.11 – Numeração segundo as recomendações da IUPAC	24
Figura 2.12 – Química de coordenação das porfirinas: a metalação de uma porfirina é também a coordenação do metal; X e Y são ligandos axiais	24
Figura 2.13 – Processos comuns da coordenação axial. L = ligando de troca; X = ligando fixo	25
Figura 3.1 – Mapa de Portugal, onde se encontram sinalizados os Distritos de Aveiro e Viseu, onde foram recolhidas as amostras	29
Figura 3.2 – Espectrofotómetro de Ultra Violeta Visível de feixe duplo utilizado no Método do Azul de Indofenol	31
Figura 3.3 – Soluções obtidas após o desenvolvimento da cor no método do Azul de Indofenol	33
Figura 3.4 – Representação de um spin coater	35
Figura 3.5 – Montagem experimental utilizada para a quantificação do amoníaco em águas destinadas ao consumo humano	37
Figura 4.1 – Frequência de um cristal de quartzo após a introdução de 10 mL da solução de NH_3 de concentração 30 $\mu\text{g/L}$	41

Figura 4.2 – Recta de calibração obtida pelo Método Baseado em Cristais Piezoelétricos	42
Figura 4.3 – Gráfico da Frequência de um cristal de quartzo após introdução de 10 mL de uma amostra de água	44
Figura 4.4 – Frequência do cristal de quartzo revestido aquando da análise de uma solução de amoníaco de 1,8 mmol/L (30 mg L ⁻¹) com 1,8 mmol/L de glicina	45
Figura 4.5 – Frequência do cristal de quartzo revestido aquando da análise de uma solução de amoníaco de 1,8 mmol/L (30 mg L ⁻¹) com 1,8 mmol/L de dietilamina	46
 Figura I – Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ¹ H da estrutura livre da porfirina	 65
Figura II - Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ¹⁹ F da estrutura livre da porfirina	66
Figura III – Espectroscopia de Ultra Violeta Visível do complexo de manganésio	67

Lista de Símbolos

<i>Símbolo</i>	<i>Descrição</i>
NH_x	Equilíbrio Químico entre o amoníaco e o ião de amónio
NH_3	Amoníaco
NH_4^+	Ião de amónio
N_2	Azoto
UV-Vis	Ultravioleta-Visível
NaOH	Hidróxido de Sódio
$\text{Mn}(\text{TPFPP})\text{Cl}$	Cloro[5,10,15,10-tetraquis(pentafluorofenil)porfirinato]manganésio(III)
QCM	Microbalança de cristais de quartzo
ΔF	Variação da frequência
F_0^2	Frequência ressonante
ΔM	Variação da massa
C	Constante de sensibilidade de massa
ρ_p	Densidade do quartzo
μ_q	Modo de cisalhamento

1.Introdução Geral

O amoníaco chega ao meio ambiente através de fontes naturais ou antropogénicas. Este é imprescindível para o meio ambiente uma vez que as plantas assimilam-no para construir os aminoácidos celulares e as proteínas. Porém, o seu excesso pode provocar problemas graves nos ecossistemas, como o crescimento excessivo da biomassa e causa perturbações na coluna de água, podendo levar à eutrofização. Pode-se também acumular no ser humano e noutros organismos vivos, levando a alterações no seu metabolismo e do pH corporal. Existe por isso a necessidade de controlar o amoníaco presente nas águas.

Na literatura existem várias técnicas analíticas para a determinação do amoníaco em águas. Contudo, estas técnicas apresentam diversas desvantagens, existindo assim a necessidade de procurar métodos mais eficazes, baratos e simples.

O objectivo principal deste trabalho foi o desenvolvimento de um novo método analítico para a determinação de amoníaco em águas doces destinadas ao consumo humano. Para tal, desenvolveu-se um sensor químico baseado em microbalanças de cristais piezoelectricos de quartzo. O princípio de funcionamento deste sensor baseia-se no facto de os cristais piezoelectricos oscilarem quando excitados electricamente e da sua frequência de oscilação se encontrar directamente relacionada com a massa depositada sobre o cristal.

Num primeiro passo para o desenvolvimento do sensor procedeu-se à aplicação de um revestimento no cristal piezoeléctrico, um complexo metálico de um monociclo tetrapirrólico que interage com o amoníaco. De seguida, procedeu-se à criação de uma montagem experimental de modo a criar as condições necessárias para a realização das análises às águas. A detecção do amoníaco é feita em fase de vapor, logo todas as formas de azoto existentes na água devem ser transformadas em NH_3 , para o que se torna necessário ajustar o pH para valores iguais ou superior a 11, através da adição de uma base forte. Depois do sensor montado e das análises realizadas foi efectuada a análise dos resultados obtidos por comparação com os resultados obtidos pelo método do azul de indofenol de forma a verificar a fiabilidade do novo método e a sua funcionalidade.

Este trabalho encontra-se dividido em cinco partes. A primeira parte tratada é a introdução geral e a segunda parte do estado de arte. Aqui se fala do amoníaco e das suas propriedades no meio aquático, dos métodos analíticos utilizados para a sua

determinação, do princípio de funcionamento dos sensores de massa baseados em cristais piezoelectricos.

Na terceira parte do trabalho são apresentados os aspectos experimentais. É apresentada a montagem experimental e são detalhadas as metodologias e procedimentos experimentais de ambos os métodos testados: o método baseado em microbalanças de cristais piezoelectricos e o método do azul de indofenol.

Na quarta parte do trabalho faz-se a discussão e a análise dos resultados obtidos. Analisam-se os resultados obtidos na determinação do amoníaco pelo sensor, os testes à presença ou não de alguns interferentes e comparam-se estatisticamente os resultados obtidos pelos dois métodos utilizados, apresentando-se ainda algumas das vantagens e desvantagens do novo método

Por fim, na última parte, expõem-se as conclusões gerais do trabalho.

2. Revisão Bibliográfica

2.1 – O Amoníaco: a origem e propriedades

O amoníaco é produzido naturalmente a partir de fontes naturais ou antropogénicas. O NH_x ($\text{NH}_3\text{-NH}_4^+$) [1] é produzido pelas bactérias (fontes naturais), através da decomposição das proteínas, aminoácidos e outros compostos orgânicos nitrogenados na coluna de água [2]. A utilização de fertilizantes na agricultura também constitui uma fonte de amoníaco. Este é também bastante usado na indústria, como por exemplo na síntese do ácido nítrico, fibras, plásticos e explosivos, na indústria metalúrgica e refinações, na produção de cerâmicas, na mineração, no processamento de alimentos e na produção de equipamentos de refrigeração. É introduzido nas águas residuais devido à utilização dos produtos de limpeza domésticos. Por fim, o amoníaco é ainda produzido através da decomposição atmosférica. O NH_x vai para a atmosfera através de processos de volatilização e combustão, sendo que a deposição atmosférica contribui significativamente para a introdução do amoníaco nos sistemas aquáticos [3-5].

O amoníaco (NH_3) é um dos principais constituintes do ciclo do Azoto. Cerca de quatro quintos da atmosfera é constituída por azoto livre, mas este não pode ser utilizado directamente pelos seres vivos, o restante azoto encontra-se distribuído pela matéria orgânica nos solos e nos oceanos. O ciclo do azoto é um dos ciclos mais importantes dos ecossistemas terrestres. O azoto é utilizado pelos seres vivos para a produção de moléculas complexas necessárias ao seu desenvolvimento, como é o caso dos aminoácidos, proteínas e ácidos nucleicos [2,6].

Apesar do azoto ser bastante abundante na atmosfera, é considerado um elemento limitante ao crescimento das plantas, uma vez que estas apenas o conseguem obter na forma de ião de amónio (NH_4^+), nitrito (NO_2^-) e nitrato (NO_3^-). Estes compostos são obtidos através de diversos processos patentes no ciclo do Azoto [7,8].

O ciclo do azoto (Figura 2.1) encontra-se dividido em etapas. A fixação é o processo através do qual o azoto atmosférico é fixado pelas plantas. Algumas bactérias têm a capacidade de fixar as moléculas de azoto gasoso (N_2) e transforma-lo, através de processos de simbiose, em amoníaco, nitratos e nitritos. Na água doce e nos oceanos, muitas outras formas de vida, além das bactérias, produzem amoníaco como produto final do seu metabolismo. A etapa seguinte consiste na decomposição da matéria

orgânica morta. Esta é convertida em NH_4^+ pela acção de bactérias aeróbias, anaeróbicas e alguns fungos. A terceira etapa é a nitrificação (oxidação do amoníaco), que consiste na produção de nitratos a partir do amoníaco (NH_3). Este processo é realizado por bactérias nitrificantes, e pode ser dividido em duas etapas: numa primeira etapa o amoníaco é convertido em nitritos (NO_2^-) e numa segunda fase, os nitritos são convertidos em nitratos (NO_3^-), sendo posteriormente são assimilados pelas plantas. Numa quarta etapa, os nitratos são utilizados pelas bactérias na respiração anaeróbica e libertam azoto no estado gasoso (N_2). A este processo dá-se o nome de desnitrificação, no qual o azoto volta para atmosfera no estado gasoso, fechando-se assim o ciclo do Azoto [7,8].

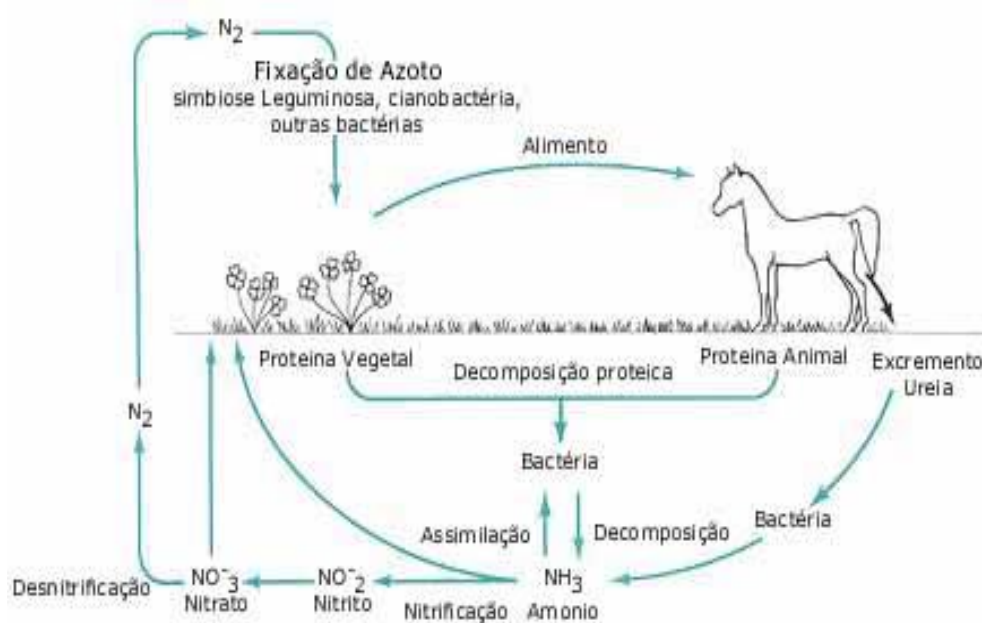


Figura 2.1. - Ciclo do Azoto [9]

À temperatura ambiente, o amoníaco é um gás incolor. A tabela 2.1 apresenta as principais propriedades físico-químicas do amoníaco.

Tabela 2.1. - Parâmetros físico-químicos do amoníaco [1]

Parâmetros	Valores
Peso Molecular	17,03
Ponto de Ebulição, °C	-33,4
Ponto de Fusão, °C	-77,7
Solubilidade (g/L): água fria	899
Água quente	74
Álcool	132
Coeficiente de solubilidade (298 K)	0,0420
Constante de acidez, pKa	9,245

Na água o amoníaco dissolvido existe em equilíbrio com o amoníaco gasoso e o catião amónio solvatado (equação 1):



O equilíbrio entre o $\text{NH}_{3(\text{s})}$ - $\text{NH}_{4(\text{s})}^{+}$ é de elevada importância na química da água e no ciclo do amoníaco. Nas águas naturais, o NH_4^{+} é a espécie dominante (Figura 2.2), dado que o equilíbrio entre o NH_3 - NH_4^{+} depende do pH, da força iónica e da temperatura [10].

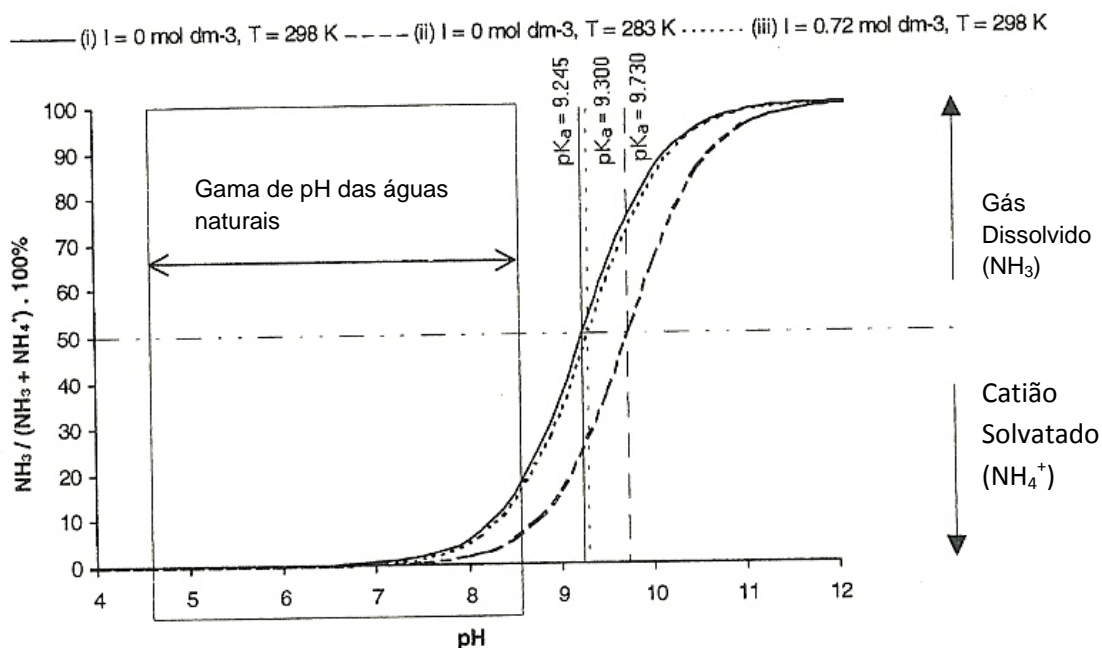


Figura 2.2 – Equilíbrio entre o $\text{NH}_3 - \text{NH}_4^+$ [adaptado da referência 8].

Como já foi referido, o amoníaco é bastante importante como micronutriente uma vez que as plantas assimilam-no para formar os aminoácidos celulares e proteínas. A presença do amoníaco em excesso pode, no entanto, constituir um perigo potencial para os ecossistemas. O excesso de amoníaco nas águas leva a um crescimento excessivo da biomassa, à perturbação do equilíbrio ecológico da coluna de água e à eutrofização. Daí a necessidade de controlar as concentrações presentes nas águas, sendo que o valor máximo recomendado para as águas destinadas ao consumo humano é de $0,05 \text{ mg/L}$ [11]. O amoníaco pode ainda acumular-se no corpo humano e noutros organismos vivos com graves prejuízos para os mesmos. No homem pode alterar o metabolismo e o pH corporal, é irritante para os olhos, nariz, garganta e pulmões [1].

Assim, a determinação do amoníaco constitui um parâmetro importante para o controlo de qualidade das águas destinadas ao consumo humano.

2.2- Métodos para a Análise de Amoníaco

Existem diversos métodos para quantificar o amoníaco nas águas. A escolha da metodologia deve ser feita tendo em conta os limites de detecção da metodologia, a concentração de amoníaco nas amostras, e a selectividade da metodologia versus composição da amostra.

2.2.1 Métodos Espectroscópicos

2.2.1.1. Método do Azul de Indofenol

Em 1859 Berthelot descreveu a determinação do amoníaco através do método azul de indofenol. A reacção de Berthelot oferece uma elevada sensibilidade, e é o método mais utilizado para a determinação do amoníaco [1], sendo o método aconselhado por diversos autores na literatura devido à sensibilidade que apresenta em relação aos restantes métodos utilizados na determinação do amoníaco em águas.

O amoníaco e o fenol reagem na presença de hipoclorito para formar o azul de indofenol. O tempo necessário para que esta reacção atinja a máxima absorção pode ser mais que uma hora. O aumento da temperatura pode acelerar o desenvolvimento da cor, embora isto leve a uma rápida perda da cor [12,13].

A complexidade da reacção levou a diversos estudos das condições da reacção, assim como as concentrações dos reagentes, pH, efeitos da temperatura e a ordem de adição dos reagentes. Por isso, tal estudo levou a introdução do nitropussianato como catalisador [14-17].

A Figura 2.3 apresenta as reacções de Berthelot.

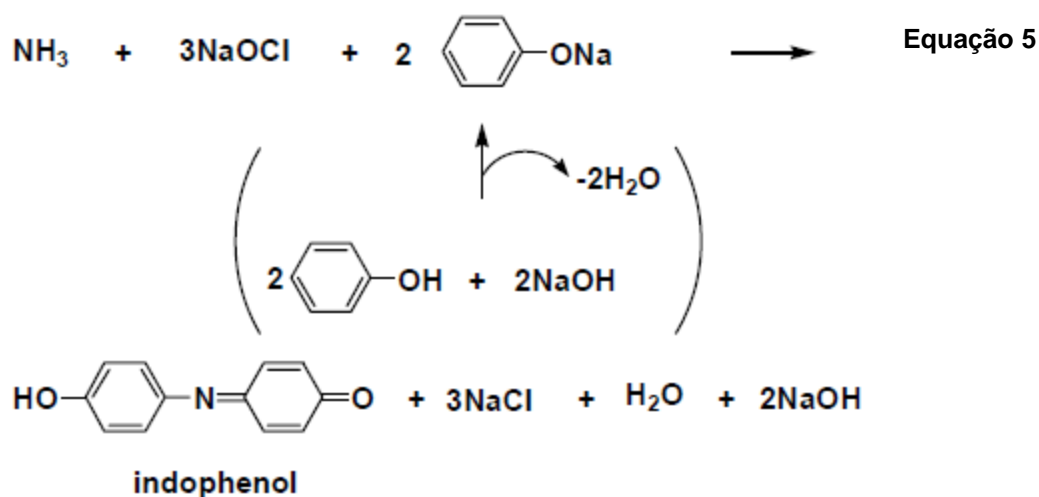
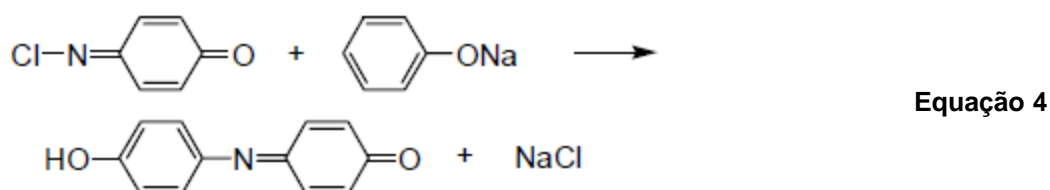
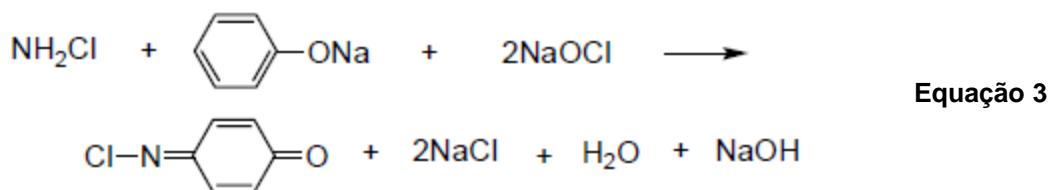
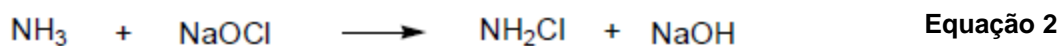


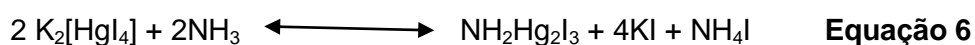
Figura 2.3 – Reacções de Berthelot [15].

O amoníaco reage com o hipoclorito (OCl^-) para formar monocloramina (Equação 2), que por sua vez reage com dois fenatos para formar o corante indofenol (Equações 3 e 4). Estequiometricamente a reacção geral diz que 1 mol de NH_3 reage com 2 moles de fenol e 3 moles de OCl^- para formar 1 mol de indofenol [14,15,17].

A concentração de amoníaco é determinada medindo a absorvência do indofenol a 640 nm num espectrofotómetro de ultra violeta visível. Nestas reacções, a monocloramina, o hidróxido de sódio e o fenol são reagentes essenciais à formação do indofenol.

2.2.1.2. - Método de Nessler

J. Nessler, em 1856, propôs pela primeira vez o uso de uma solução alcalina de tetraiodomercurato(II) de potássio (reagente de Nessler) como reagente para a determinação de amoníaco em águas. Quando o reagente de Nessler é adicionado à amostra, a reacção com o amoníaco produz um precipitado amarelo-acastanhado. A intensidade da cor vai depender da concentração de amoníaco presente. A equação 6 traduz a reacção que ocorre entre o amoníaco e o reagente de Nessler:



Pode ocorrer a existência de interferentes, tais como partículas em suspensão, então deve-se proceder inicialmente à destilação das amostras. Este método é por norma aplicado à determinação de amoníaco em concentrações muito baixas, 0,1 mg L⁻¹ [18,19].

2.2.1.3. - Fluorescência

Esta é uma técnica automatizada de fluorescência para a determinação de amoníaco em águas naturais. Neste método, o NH_x presente nas amostras tem que ser convertido em NH₃ através da adição de uma base forte. Assim, o NH₃ entra numa membrana permeável através do fluxo do reagente. O produto da reacção entre o amoníaco e o reagente utilizado é determinado fluoretricamente. Este método é bastante usado para determinação de amoníaco com baixos limites de detecção [1].

2.2.2. Sensores químicos

2.2.2.1. - Método Potenciométrico

O eléctrodo selectivo para a determinação do amoníaco é constituído por uma membrana fina de gás hidrofóbico, permeável, que separa o electrólito interno (cloreto de amónio) da amostra [20]. Às amostras são adicionadas uma base forte, de forma a converter todo o NH_4^+ em solução em NH_3 , que por sua vez passa por difusão através da membrana para dentro da célula. A variação do pH é detectada por um eléctrodo, dando origem a um sinal potenciométrico [1, 21].

O potencial da célula encontra-se associado à concentração de NH_3 presente nas amostras. A difusão do NH_3 é impulsionada pela diferença de pressão na membrana. Uma vez que a pressão parcial do NH_3 da solução interna encontra-se em equilíbrio com o da amostra, a tensão exercida pelo eléctrodo é estável, logo o equilíbrio depende da concentração do NH_3 da amostra [22].

Este método é aplicado para a determinação de concentrações entre 0,03 a 1400 mgL^{-1} de NH_3 em águas potáveis, superficiais e águas residuais domésticas e industriais. Concentrações elevadas de iões dissolvidos interferem na determinação do amoníaco, contudo a cor e a turbidez das amostras não interferem. O eléctrodo selectivo também responde a concentrações baixas de amoníaco, por isso a imersão do eléctrodo deverá demorar cerca de 2-3 minutos para a obtenção das leituras. As aminas são possíveis interferentes deste método [22].

2.2.2.2. Sensores ópticos

Nos últimos anos têm sido desenvolvidos sensores ópticos para a determinação do amoníaco. O mecanismo destes sensores é baseado na monitorização de características como a absorção e fluorescência [23-25].

Estes são constituídos basicamente por um reagente imobilizado na fibra óptica. Ao interagir com o analito, o reagente modifica as suas propriedades ópticas, sendo estas transmitidas pela fibra óptica. A imobilização do reagente pode ser feita por métodos físicos ou por meio de uma reacção química covalente [24,25].

Estes sensores apresentam a vantagem de poderem fazer várias determinações ao mesmo tempo, possibilidade medições à distância. Contudo, estes também possuem a desvantagem da luz ambiente causar possíveis interferências, poder ter pouco tempo de vida, e o tempo de resposta poder ser demorada [24,25].

2.2.2.3. Sensores de Condutividade

Os polímeros condutores, os seus derivados e os óxidos metálicos têm sido usados como camadas activas nos sensores de gás desde 1980. Os polímeros condutores são facilmente sintetizados através de processos químicos e electroquímicos, sendo a sua estrutura facilmente modificada através de derivações estruturais. Para além disso, os polímeros apresentam boas propriedades mecânicas o que permitem assim uma fácil obtenção dos sensores [26-29]. Comparando-os com a maioria dos sensores, estes são baseados em óxidos metálicos ou polímeros que operam a elevadas temperaturas. Estes possuem grande sensibilidade e apresentam uma resposta num curto espaço de tempo [26].

2.3. Microbalança de Cristais de Quartzo

2.3.1. Definição e breve história da piezoelectricidade

A palavra *piezo*, deriva da língua grega e significa pressionar, sendo a piezoelectricidade definida como a capacidade de um material produzir electricidade através da aplicação externa de uma pressão mecânica [30].

A piezoelectricidade é uma propriedade apresentada por um grupo de materiais, que foi descoberta em 1880 por Pierre e Jacques Curie, durante um estudo realizado sobre os efeitos da pressão mecânica no aparecimento de cargas eléctricas em cristais, tais como o quartzo, entre outros [30-32]. O termo piezoelectricidade apareceu um ano mais tarde, em 1981 sendo sugerida por W. Henkel. Lippmann deduziu matematicamente a existência de um efeito inverso ou recíproco para a piezoelectricidade baseando-se nos princípios fundamentais da termodinâmica, tendo o trabalho dos irmãos Curie comprovado experimentalmente a sua existência. Estes comprovaram a reversibilidade completa das deformações mecânico-electro-elásticas nos materiais piezoelétricos e apresentaram algumas aplicações laboratoriais [31]. O efeito piezoelétrico é apenas encontrado em materiais sem centro de simetria [33].

2.3.2. Cristais piezoelectricos de quartzo

O quartzo é constituído quimicamente por dióxido de silício (SiO_2). Quando uma pressão mecânica deforma a rede cristalina, o centro das cargas positivas e negativas desloca-se, dando-se o aparecimento de cargas à superfície, Figura 2.4 [34]. É o cristal piezoelétrico mais usado graças às suas características, tais como ser inerte, insolúvel em água e à sua resistência térmica até 579°C sem alteração das suas propriedades piezoelétricas. Para além disso possui um excelente factor de qualidade (Q), sendo Q a razão entre a energia armazenada e a energia perdida por ciclo, durante a oscilação, o que garante a estabilidade da frequência.

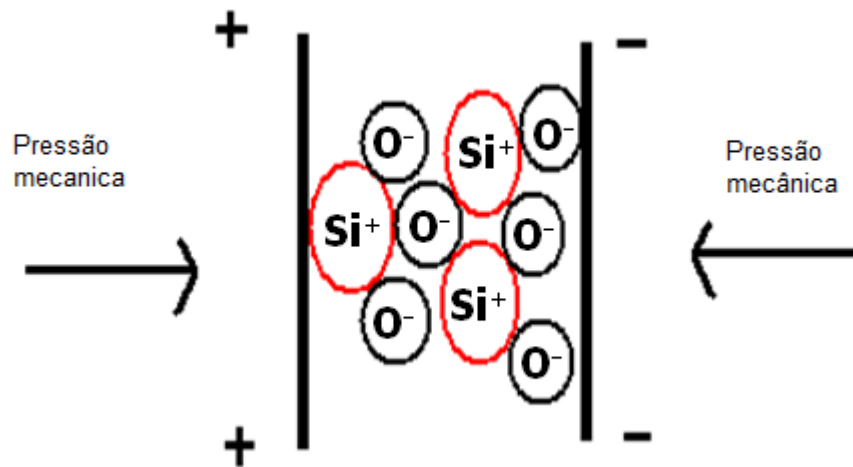


Figura 2.4 Efeito piezoelétrico no quartzo

O cristal piezoelétrico de quartzo é obtido pelo corte num determinado ângulo na estrutura cristalina (Figura 2.5).

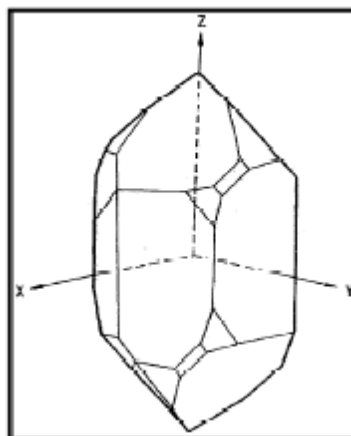


Figura 2.5 – Estrutura cristalina do cristal de quartzo com os respectivos eixos [32].

A esta lâmina de quartzo são aplicados dois eléctrodos metálicos, um em cada uma das faces opostas. Na Figura 2.6 encontra-se representado um cristal piezoeléctrico de quartzo com eléctrodos metálicos.

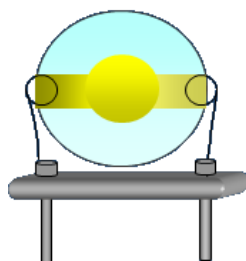


Figura 2.6 – Cristal piezoeléctrico de quartzo [35]

Existem dois tipos de sensores acústicos: os BAW (“Bulk Acoustic Wave”) e os SAW (“Surface Acoustic Wave”). Por norma os sensores BAW, operam no modo de cisalhamento TSM (“Thickness Shear Mode”) [36].

A microbalança de cristal piezoeléctrico, usualmente designada por QCM (“Quartz Crystal Microbalance”) é um dispositivo em modo de cisalhamento em que a acústica se propaga na direcção perpendicular à superfície do cristal [37]. Para que isto aconteça, é necessário realizar um corte com uma orientação específica, com os respectivos eixos do cristal. A escolha do eixo e do ângulo de corte determina as propriedades físicas e eléctricas do quartzo como oscilador. Geralmente são utilizados dois ângulos específicos que apresentam coeficientes de temperatura zero, nomeadamente o corte AT e o corte BT, como mostra na Figura 2.7. Os cortes AT e BT tem fundamentalmente ângulos de corte de 35° e 49° em relação ao eixo do cristal primário. O corte AT a $35^\circ 15'$ é o mais indicado, dado que a frequência é praticamente insensível à variação da temperatura ambiente e é superior ao corte BT na sensibilidade à massa [36]. No corte AT o cristal oscila no modo cisalhamento de espessura, em que as partículas da superfície do cristal se deslocam conforme é indicado na Figura 2.8. Se todas as variáveis que podem influenciar o cristal poderem ser controladas e se mantiverem constantes, a espessura é directamente proporcional à frequência.

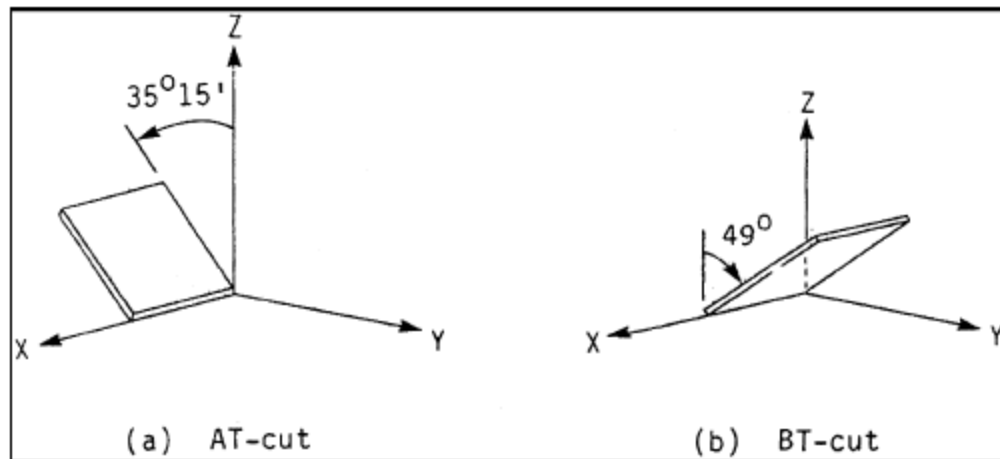


Figura 2.7 – Cortes AT e BT da estrutura cristalina de quartzo [32].

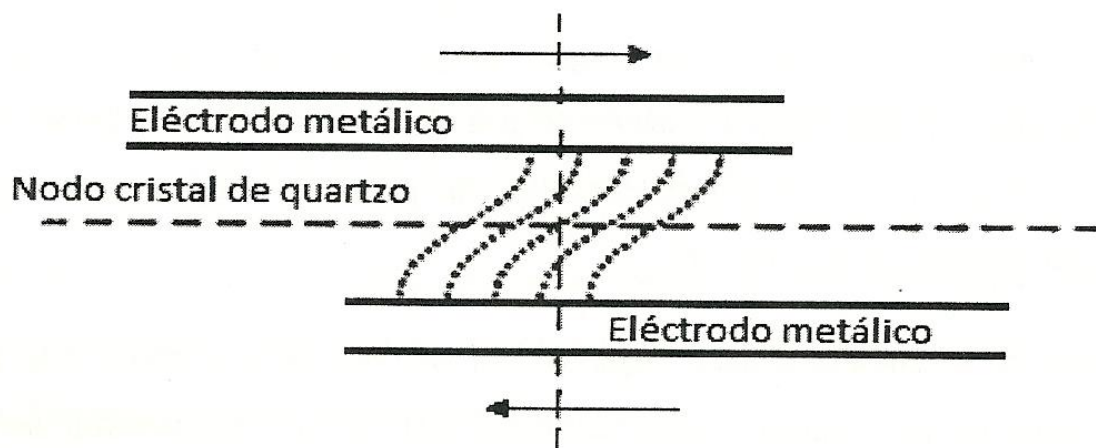


Figura 2.8 – Representação da onda que se propaga através do material, perpendicularmente às faces do cristal piezoelétrico de quartzo [38].

A textura do cristal pode ser rugosa ou lisa, sendo os mais comuns os polidos mecanicamente ou os rugosos, sendo a textura que influencia a aderência. A frequência típica é entre os 5-10 MHz, apresentando espessuras razoáveis. Acima dos 537°C o cristal deixa de ser operável [37]. O diâmetro do cristal também desempenha um papel

importante na estabilidade deste, sendo os diâmetros mais comuns de 10 e 16 mm [36]. A espessura do cristal determina a sua frequência, e por sua vez a estabilidade, por isso quanto mais fino for o cristal, maior é a sua frequência, e maior a sua sensibilidade, tendo a desvantagem de estes se tornarem muito frágeis e difíceis de manusear.

2.3.3. Sensor baseado em cristais piezoelectricos de quartzo

Neste trabalho é utilizado o método baseado em microbalanças de cristal de quartzo, que se baseia no facto da variação de massa à superfície do cristal provocar uma variação na frequência de vibração.

Em 1959, Sourbrey [30,39,40] introduziu um novo método baseado em microbalanças de cristais de quartzo, através do uso de cristais piezoelectricos, que mede a massa de filme aderente à superfície do cristal de quartzo, por unidade de área, pela variação da frequência no cristal de quartzo.

Como a QCM é piezoeléctrica, a aplicação de um potencial eléctrico externo produz um mecanismo interno de oscilação do campo eléctrico a todo o dispositivo, o que induz a uma propagação de uma onda acústica através do cristal [32]. Para além da espessura existem outros factores que afectam a frequência do cristal, assim como a densidade, o corte, o diâmetro e o módulo de cisalhamento do quartzo.

A Figura 2.9 demonstra a resposta a uma injeção de uma determinada concentração do composto a analisar. A massa depositada na superfície do cristal provoca um aumento da espessura e por sua vez a frequência de oscilação diminui. Esta diminuição é proporcional à massa depositada, e voltará posteriormente ao valor inicial graças à reversibilidade do sensor.

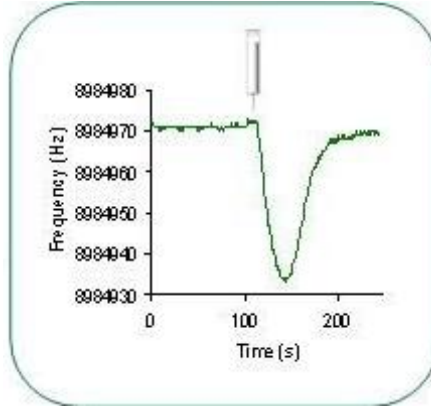


Figura 2.9 – Exemplo de uma resposta obtida a uma determinada massa injectada [35].

A variação da frequência pode ser quantificada a partir da Equação de Sauerbrey [32].

$$\Delta F = -\frac{2f_0^2 \Delta m}{A\sqrt{\mu_q \rho_q}} = -C \Delta m \quad \text{Equação 7}$$

Onde ΔF é a frequência do cristal de quartzo, f_0^2 é a frequência ressonante fundamental, Δm é a variação de massa (g), A é a área activa de piezoelétricidade, μ_q é o modulo de cisalhamento do quartzo = $2,947 \times 10^{11} \text{ g.cm}^{-2}$, ρ_q é a densidade do cristal de quartzo = $2,648 \text{ g.cm}^{-3}$, C é a constante da sensibilidade da massa $(\text{sg})^{-1}$ [36].

Sauerbrey demonstrou que a frequência de ressonância diminuía à medida que se adicionava a massa à superfície do sensor, porque a distância percorrida pela onda acústica, desde uma face do sensor até à outra aumentava devido ao aumento da espessura adicionada. Sauerbrey considerou que o filme depositado possuía as mesmas propriedades acústicas que o quartzo e que se tratava de um filme rígido e uniformemente distribuído [32, 41].

Para a detecção do analito é essencial que a espécie a ser detectada interaja com os eléctrodos da superfície do cristal de forma a fazer variar a massa do cristal [42].

2.3.4. Vantagens e Desvantagens das microbalanças

A principal vantagem das microbalanças é a sua sensibilidade, que pode ser também responsável pela possível variabilidade observada nos resultados.

A variabilidade começa pelos cristais. Existem pequenas diferenças resultantes das variações de espessura e tamanho, assim como dos eléctrodos e das imperfeições da superfície, assim como irreprodutibilidade na deposição do revestimento. Quando se usam cristais em que as ligações aos eléctrodos são constituídas por fios finos, flexíveis e por vezes com diferentes comprimentos, estes podem fazer variar a posição do cristal relativamente ao caudal de gás, produzindo assim diferenças na sensibilidade destes. Um dos motivos da variação da frequência a longo prazo mais conhecido é o “envelhecimento” do cristal, dado que este nunca volta exactamente ao mesmo estado cada vez que é levado a oscilar. Estes ainda podem conter contaminações, devidas aos processos de fabrico, levando assim ao aconselhamento da limpeza destes antes de serem utilizados pela primeira vez [43].

Um outro factor experimental que se deve ter em atenção é a temperatura. Os cristais AT dão algumas garantias quanto à sua estabilidade, contudo a dissolução e adsorção de gases no revestimento são bastante influenciados pela temperatura, e as temperaturas elevadas podem levar à evaporação do revestimento. A humidade é uma variável que geralmente afecta a estabilidade do sensor, dado que a baixas temperaturas, a água pode até chegar a condensar sobre o cristal e impedir a vibração deste [43].

Existe ainda a presença de ruído eléctrico que é frequente e obriga a esperar alguns minutos até que a frequência estabilize e se possam retomar os ensaios [43].

As análises de líquidos são mais complicadas do que as em fase gasosa, uma vez que os líquidos possuem uma sobrecarga adicional e ocorre dissipação de energia do mesmo [43].

Contudo, a grande vantagem é a simplicidade do equipamento utilizado na maioria das experiências, bem como o custo reduzido e a facilidade de aquisição dos cristais, contribuindo assim para tornar o método acessível [43].

2.3.5. Revestimento Aplicado

O revestimento é aplicado no cristal para promover a interacção com a espécie (amoníaco, neste caso) que se pretende analisar. A procura de uma interface específica que demonstre uma interacção selectiva e reversível é de grande importância, e a sua eficiência na detecção está dependente de características como: capacidade de adsorção do analito, selectividade, rapidez de resposta, reversibilidade e reprodutibilidade ao longo do tempo.

O revestimento utilizado foi a metaloporfirina cloro[5,10,15,20-tetraquis(pentafluorofenil)porfirinato]manganésio(III), $\text{Mn}(\text{TPFPP})\text{Cl}$, de origem sintética cedida pelo Grupo de química Orgânica do Departamento de Química da Universidade de Aveiro. A estrutura da porfirina seleccionada encontra-se representada na Figura 2.10. bem como a numeração segundo a IUPAC na Figura 2.11.

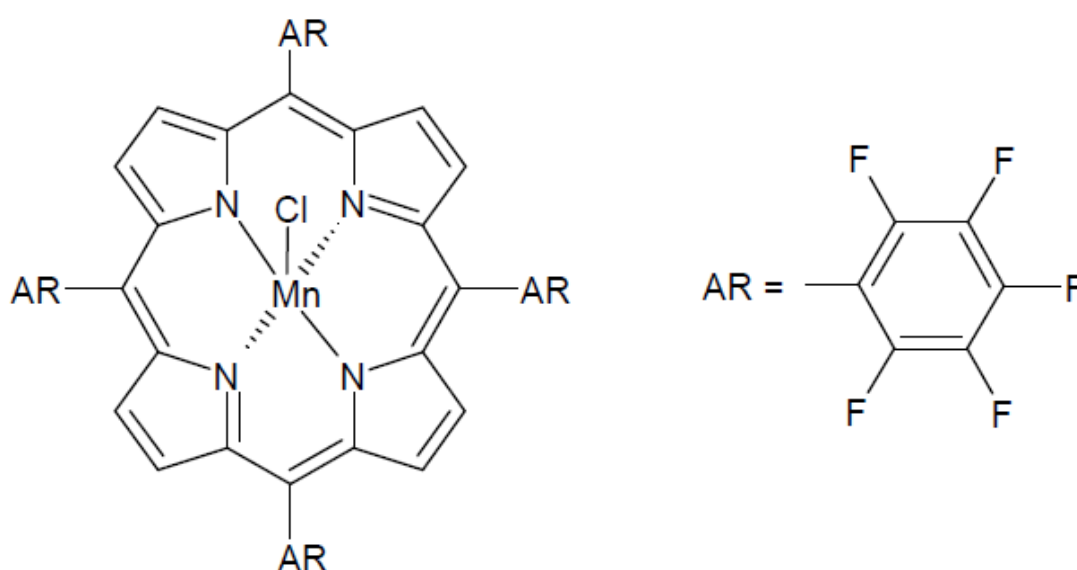


Figura 2.10 – Representação da estrutura da metaloporfirina, $\text{Mn}(\text{TPFPP})\text{Cl}$

<u>Numeração</u>	<u>Posição</u>
1,4,6,9,11,14,16 e 19	α -pirrólicas
5,10,15 e 20	Meso
2,3,7,8,13,17 e 18	β -pirrólicas

Figura 2.11 – Numeração segundo as recomendações da IUPAC

A maioria dos elementos da tabela periódica forma complexos equatoriais com porfirinas, e muitas dessas metaloporfirinas são ainda capazes de adicionar ligandos axiais, tal como pode ser observado na Figura 2.12 [44, 45].

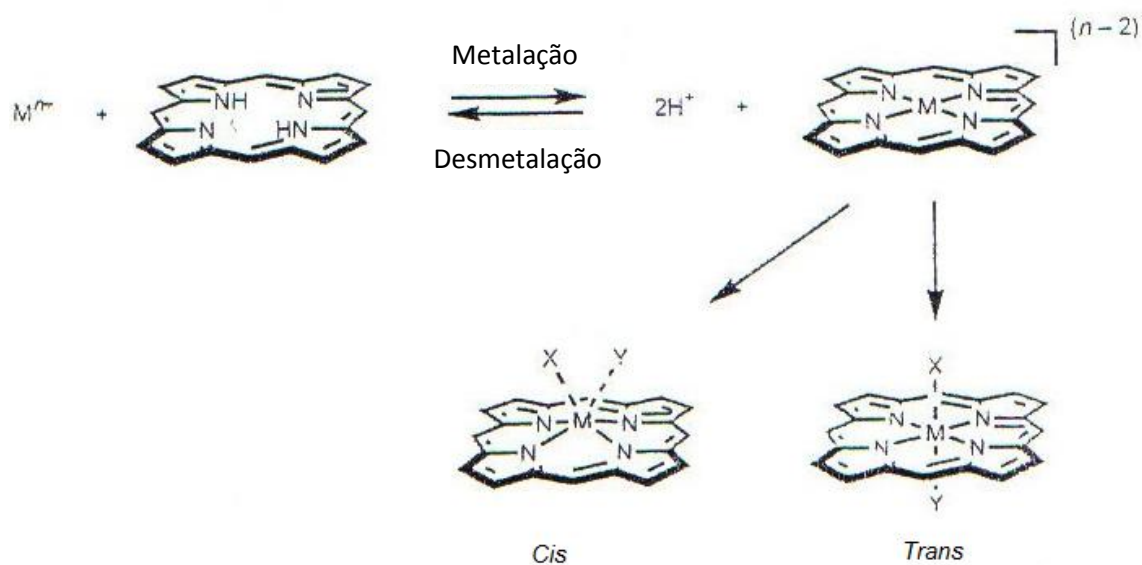


Figura 2.12 – Química de coordenação das porfirinas: a metalação de uma porfina é também a coordenação equatorial do metal; X e Y são ligandos axiais [adaptado da referência 44].

Para alguns metais, a troca de ligandos axiais é rápida e simples, como se pode observar nos processos de equilíbrio apresentados na Figura 2.13.

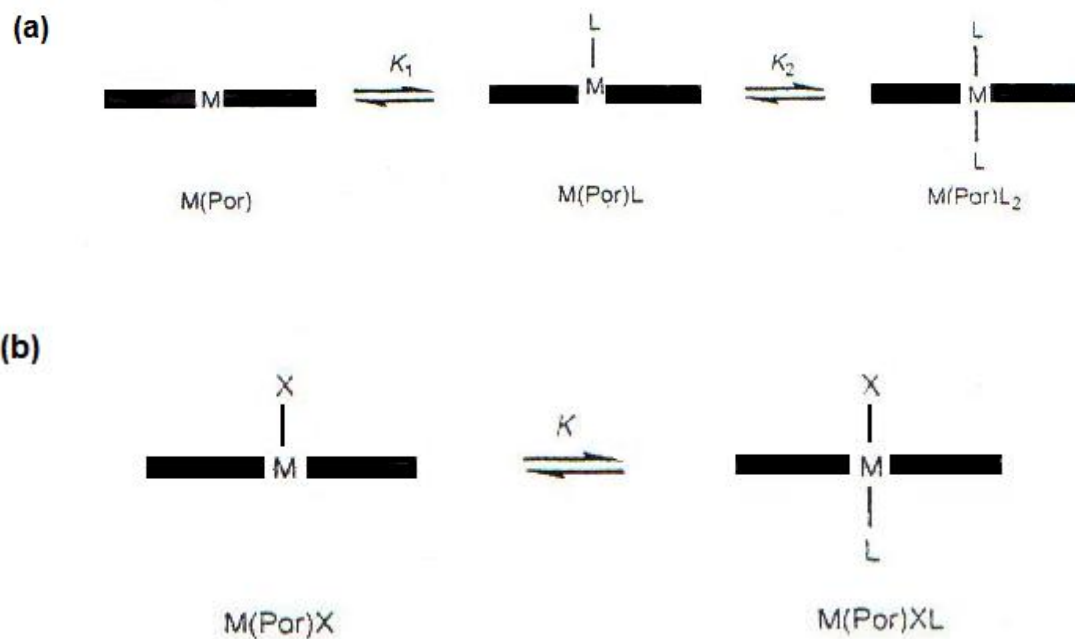


Figura 2.13 – Processos comuns da coordenação axial. L = ligando de troca; X = ligando fixo [44].

3. Instrumentação, Arranjo e Procedimento Experimentais

A componente laboratorial deste estudo encontra-se dividida em duas partes, sendo a primeira referente à descrição experimental do método mais utilizado para a determinação do amoníaco em águas, enquanto que a segunda parte se refere ao desenvolvimento de um novo método baseado em microbalanças de cristais piezoelétricos, onde se encontra a descrição da montagem experimental e os procedimentos usados para a análise do amoníaco.

3.1 – Recolha das Amostras e Preservação

As amostras de água utilizadas foram recolhidas em poços nos Distritos de Viseu e de Aveiro (Figura 3.1). Em cada Distrito a distância mínima entre os pontos de recolha foi de 2 km e a distância máxima entre eles de 30 km.



Figura 3.1 – Mapa de Portugal, onde se encontram sinalizados os Distritos de Aveiro e Viseu, onde foram recolhidas as amostras [adaptado da referência 46].

Após a recolha das amostras estas foram transportadas para o laboratório em frascos de polietileno.

No laboratório procedeu-se à sua filtração por filtros de acetato “MSI Acetate plus”, de porosidade 0,45 µm e de 47 mm de diâmetro. Os filtros de acetato foram escolhidos, porque os filtros com composições onde se encontra nitrato de celulose poderiam introduzir interferências. A filtração foi realizada manualmente através de um sistema de filtração de polietileno (Millipore). Esta filtração teve como objectivo eliminar as partículas em suspensão de forma a evitar interferências nas análises [1].

Como não se procedeu à análise das amostras no próprio dia da recolha, estas tiveram que ser preservadas.

Assim, após filtração, as amostras foram preservadas por acidificação, pela adição de algumas gotas de H_2SO_4 até $\text{pH} = 2$ e posterior refrigeração a 4°C [1].

Todo o material de vidro usado neste trabalho foi, depois limpo, lavado com ácido nítrico 4M.

3.2 – Método do Azul de Indofenol

3.2.1 – Reagentes, Material e Equipamento

Os reagentes utilizados para a execução do trabalho encontram-se descritos na Tabela 3.1. As soluções foram preparadas com água Milli-Q e os reagentes não sofreram nenhuma purificação prévia. O cloreto de amónio foi seco numa estufa a 100°C .

Tabela 3.1 – Reagentes utilizados para o Método do Indofenol

Reagentes	Referência	Qualidade Analítica
Ácido sulfúrico	Fluka – 84720	p.a
Etanol	Merck – 100983	p.a
Fenol	Panreac – 131322	p.a
Nitropussianato de Sódio	RPE – 481934	p.a
Citrato de sódio	José M. Vaz Pereira	p.a
Hidróxido de Sódio	Panreac – 131687.1211	p.a
Solução de Hipoclorito de Sódio	Panreac – 212297	p.a
Cloreto de Amónio	Merck – 101145	p.a

Foram ainda utilizadas células de quartzo de 1 cm, e um Espectrofotômetro de Ultra Violeta Visível de feixe duplo (UV-2101PC, SHIMADZU) (Figura 3.2).

**Figura 3.2** – Espectrofotômetro de Ultra Violeta Visível de feixe duplo utilizado no Método do Azul de Indofenol.

2.2.2– Procedimento

Neste método, o amoníaco das amostras e padrões reagem com o hipoclorito e o fenol, sendo a reacção catalisada pelo nitropussianato de sódio, dando origem ao azul de indofenol [1,20, 47-49].

1. Preparou-se a solução de Fenol, para a qual foram dissolvidos 10 g de fenol em etanol 95% (v/v) para um volume final de 100 mL. Esta solução foi preparada semanalmente.
2. Preparou-se uma solução de nitropussianato de sódio 0,5% (w/v) dissolvendo 0,5 g de nitropussianato de sódio em água Milli-Q para um volume final de 100 mL. Esta solução foi preparada mensalmente.
3. Preparou-se uma solução de citrato alcalino, dissolvendo 100 g de citrato de sódio e 5 g de hidróxido de sódio em água Milli-Q para um volume final de 500 mL. Sendo esta preparada semanalmente.
4. Preparou-se uma solução oxidante, através da mistura de 100 mL de citrato alcalino e 25 mL de uma solução comercial de hipoclorito de sódio, 5%. Esta solução foi preparada diariamente.
5. Preparou-se uma solução “mãe” de cloreto de amónio, 1000 mg L^{-1} , dissolvendo-se 3,1409 g de cloreto de amónio para um volume final de 1000 mL água Milli-Q.
6. A partir da solução “mãe” de cloreto de amónio, preparam-se diariamente diversas soluções padrão com diferentes concentrações: 0,005, 0,01, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05, 0,06 mg L^{-1} em água Milli-Q para um volume final de 50 mL.
7. Colocaram-se 25 mL de cada uma das soluções padrão de cloreto de amónio num erlenmeyer de 100 mL e adicionou-se com agitação constante, 1 mL de fenol, 1 mL de solução de nitropussianato de sódio e 2,5 mL da solução oxidante.
8. Voltou-se a repetir o procedimento descrito no ponto 7, substituindo a solução padrão pelas amostras, depois do pH das mesmas ter sido corrigido para os valores normais ($\approx \text{pH } 6-8$) com NaOH. Para cada amostra, procedeu-se à preparação de 5 réplicas.

9. Taparam-se os erlenmeyers e deixaram-se as soluções em repouso para desenvolver a cor à temperatura ambiente durante 1h. A cor manteve-se estável durante 24 horas após a reacção.

A figura 3.3 mostra a cor obtida com padrões de diferentes concentrações.



Figura 3.3 – Soluções obtidas após o desenvolvimento da cor no método Azul de Indofenol

10. Procedeu-se às leituras das absorvências a 640 nm das soluções obtidas com os padrões e as amostras, num espectrofotómetro de ultra violeta visível de feixe duplo utilizando células de quartzo de 1cm;
11. Com os dados obtidos no ponto 10, foi construída uma recta de calibração das absorvências em função das concentrações dos padrões de cloreto de amónio. Calculou-se a partir dessa recta e das absorvências das amostras a quantidade de NH_3 presente nas águas em $\mu\text{g L}^{-1}$.

3.3 – O sensor

3.3.1 – Reagentes, Material e Equipamento

Os reagentes utilizados para a execução desta parte do trabalho encontram-se descritos na Tabela 3.2. As soluções foram preparadas em água Milli-Q e os reagentes não sofreram nenhuma purificação prévia para além da secagem do cloreto de amónio a 100°C. Foi utilizado azoto Alphagaz proveniente do Ar Líquido como gás de arraste.

Tabela 3.2 – Reagentes utilizados para o método do sensor

Reagentes	Referências	Qualidade Analítica
Cloreto de Amónio	Merck – 101145	p.a
Hidróxido de Sódio	Panreac – 481934	p.a
Ácido Sulfúrico	Fluka – 84720	p.a
Clorofórmio	LAB-SCAN – Analytical reagent A.R	p.a
Cloro [5,10,15,20 - tetraquis(pentafluorofenil)porfirinato] manganésio(III)	Cedido pela Doutora M.Graça Neves	-

Os cristais utilizados para este trabalho são cristais de quartzo polidos e lisos de 9 MHz de corte AT, possuindo eléctrodos de ouro (ICM – International Crystal Manufacturing).

Foi utilizado o spin coater (Figura 3.4) (Delta 10TT) para o revestimento do cristal de quartzo. E durante a parte experimental utilizou-se um rotâmetro (ColeParmer) e um frequencímetro FLUKE PM6685.

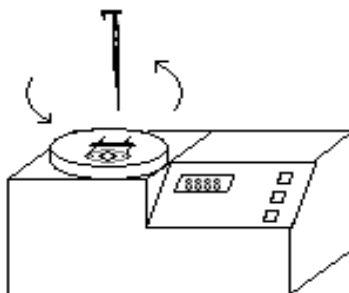


Figura 3.4 – Representação de um spin coater.

3.3.2 – Revestimento do Cristal

Os cristais de quartzo foram previamente lavados com clorofórmio puro e posteriormente deixados a secar dentro de um exsiccador. Registou-se a frequência do cristal lavado.

A metaloporfirina $\text{Mn}(\text{TPFPP})\text{Cl}$, foi utilizada no revestimento do cristal piezoeléctrico de quartzo. Esta é de origem sintética e foi cedida pelo grupo de Química Orgânica do Departamento de Química da Universidade de Aveiro.

A estrutura da porfirina livre foi confirmada por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{19}F (Anexo 1). A estrutura do complexo de manganésio foi confirmada por espectroscopia de ultra-violeta visível (Anexo 1).

A sensibilidade e a reprodutibilidade da detecção são influenciadas pela disposição do revestimento nos eléctrodos do cristal, assumindo assim uma grande importância o método utilizado no revestimento.

Preparou-se uma solução da porfirina, dissolvendo-a em clorofórmio puro (CH_3Cl), tendo-se de seguida procedido aos seguintes passos para o revestimento do cristal:

1. Ligou-se o spin coater e programou-se para 950 rpm durante 60 segundos;
2. Colocou-se o cristal na sua caixa de protecção, na qual tinha sido feito um orifício central, coincidente com a área do eléctrodo, e faz-se vácuo de modo a ficar bem preso;

3. Com o auxílio de uma micropipeta, colocaram-se alguns microlitros de uma solução concentrada da metaloporfirina, através do orifício da caixa de protecção;
4. Accionou-se o programa imediatamente, evitando que o composto secasse, para espalhar uniformemente o revestimento;
5. Repetiram-se os passos 2, 3 e 4 para a outra face do cristal;
6. Deixou-se secar o cristal durante 2 dias, dentro de um exsiccador. Ao fim desse tempo registou-se a frequência do cristal revestido.

2.3.3 – Descrição da aparelhagem e montagem experimental

Na realização do trabalho experimental com o sensor baseado em microbalança de cristais piezoelectricos utilizou-se a montagem da Figura 3.5.

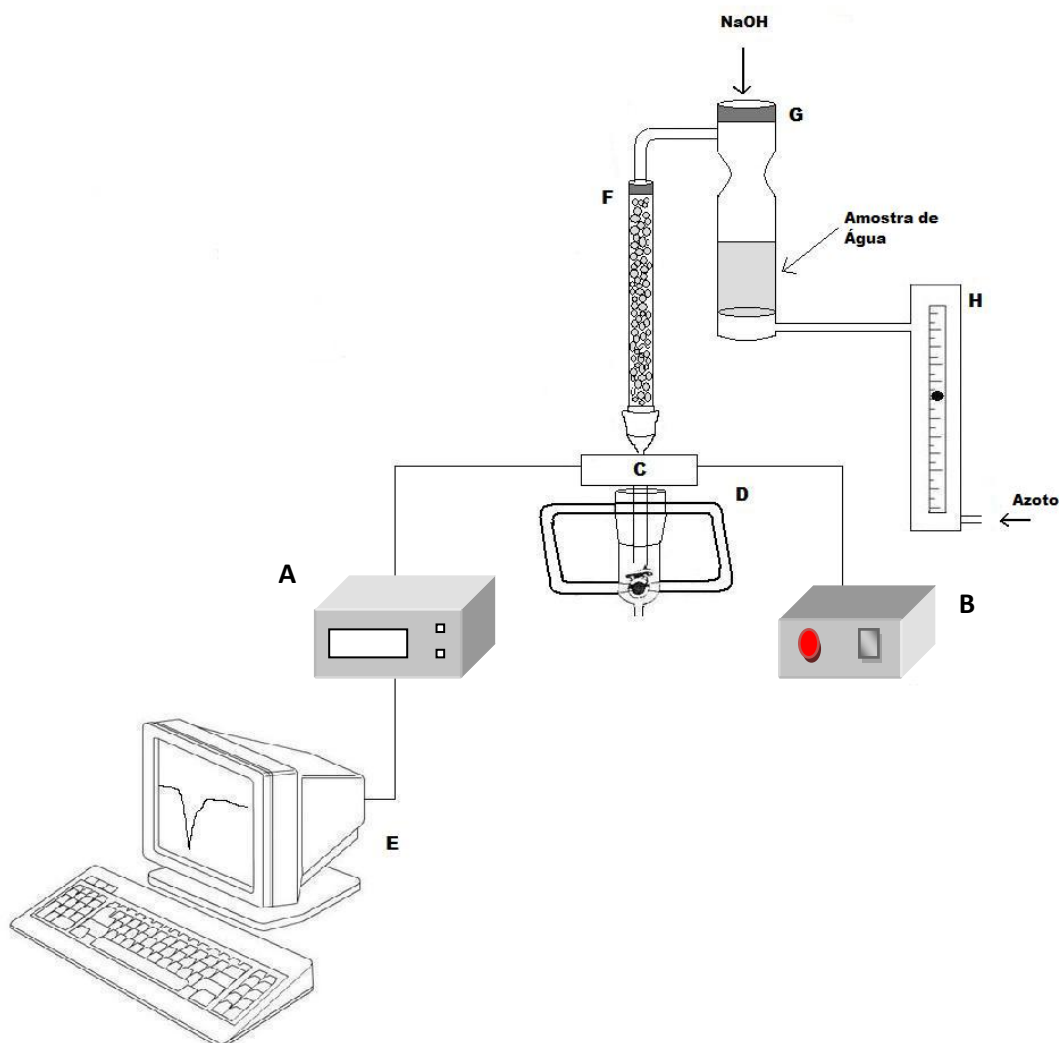


Figura 3.5 – Montagem experimental utilizada para a quantificação do amoníaco em águas destinadas ao consumo humano. (A: frequencímetro; B: fonte de alimentação; C: oscilador; D: célula do cristal; E: computador para a aquisição dos dados; F: tubo de vidro contendo sílica gel; G: célula de água; H: rotâmetro).

O sensor é baseado em cristais piezoelectricos de quartzo revestidos com Mn(TPFPP)Cl. O cristal de quartzo encontrava-se ligado a um oscilador, que por sua vez se encontrava ligado a uma fonte de alimentação. As frequências de oscilação do cristal de quartzo foram monitorizadas através de um frequencímetro, FLUKE PM6685, ligado a

um computador, o que permitiu fazer a aquisição de dados que eram armazenados no PC por meio de um programa escrito "Lab View".

2.3.4 - Procedimento

O rotâmetro assegurou a entrada constante de um caudal de $50 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$ de azoto no sistema. Este flui ao longo da montagem experimental até atingir o cristal de quartzo. A célula destinada à introdução da amostra possui na parte inferior uma placa de vidro sinterizado que permite a entrada de azoto na célula. Foi introduzido um volume de 10 mL, rigorosamente medidos, de uma amostra, ou padrão, na parte superior da célula, através da abertura na tampa. Após a estabilização da frequência, foi registado o seu valor (linha de base). De seguida, através do septo da tampa foi injectado 1 mL de uma solução de hidróxido de sódio (10 N), utilizado para converter todo o amónio livre dissolvido na água (NH_3 e NH_4^+) apenas numa forma: NH_3 . A quantidade injectada de NaOH é suficiente para aumentar o pH acima dos 11. O amoníaco é então arrastado pela corrente de azoto até ao cristal de quartzo. Antes de atingir o cristal de quartzo o fluxo de azoto contendo o amoníaco atravessa uma coluna contendo sílica-gel, que permite secalo.

A fim de aumentar a sensibilidade, o caudal de vapor do azoto contendo o amoníaco da amostra é dividido em dois, sendo cada uma destas correntes encaminhadas para uma das faces do cristal de quartzo. Ao atingir o cristal piezoeléctrico, a interacção do amoníaco com o revestimento provocou um abaixamento da sua frequência, tendo sido registado o valor mínimo observado. Calculou-se então a diferença entre o valor máximo (linha de base) e mínimo da frequência do cristal, observado depois da introdução da amostra de água/padrão.

Através da recta de calibração obtida pela análise dos padrões calculou-se a quantidade de NH_3 presente nas amostras de água em $\mu\text{g L}^{-1}$.

4. Resultados e Discussão

4.2. Reversibilidade, Sensibilidade e Estabilidade do Sensor

Neste trabalho foi testado um sensor com um revestimento constituído por uma metaloporfirina, cloro[5,10,15,20-tetraquis(pentafluorofenil)porfirinato]manganésio(III), Mn(TPFPP)Cl que já tinha sido provado ser capaz de interagir com o amoníaco [50]. Para a detecção do amoníaco em águas foi necessário fazer testes ao sensor para verificar o seu funcionamento visto não haver na literatura nenhum estudo anterior do uso de microbalanças de cristais de quartzo para a detecção de amoníaco em águas naturais. Para isso foi utilizada uma montagem como descrita na secção 3.3.3, e injectaram-se soluções padrão de cloreto de amónio.

A Figura 4.1 representa a frequência de um cristal de quartzo após a introdução de 10 mL da solução padrão de concentração NH_3 $30 \mu\text{g L}^{-1}$ e de uma injeção posterior de 1 mL de NaOH 10N.

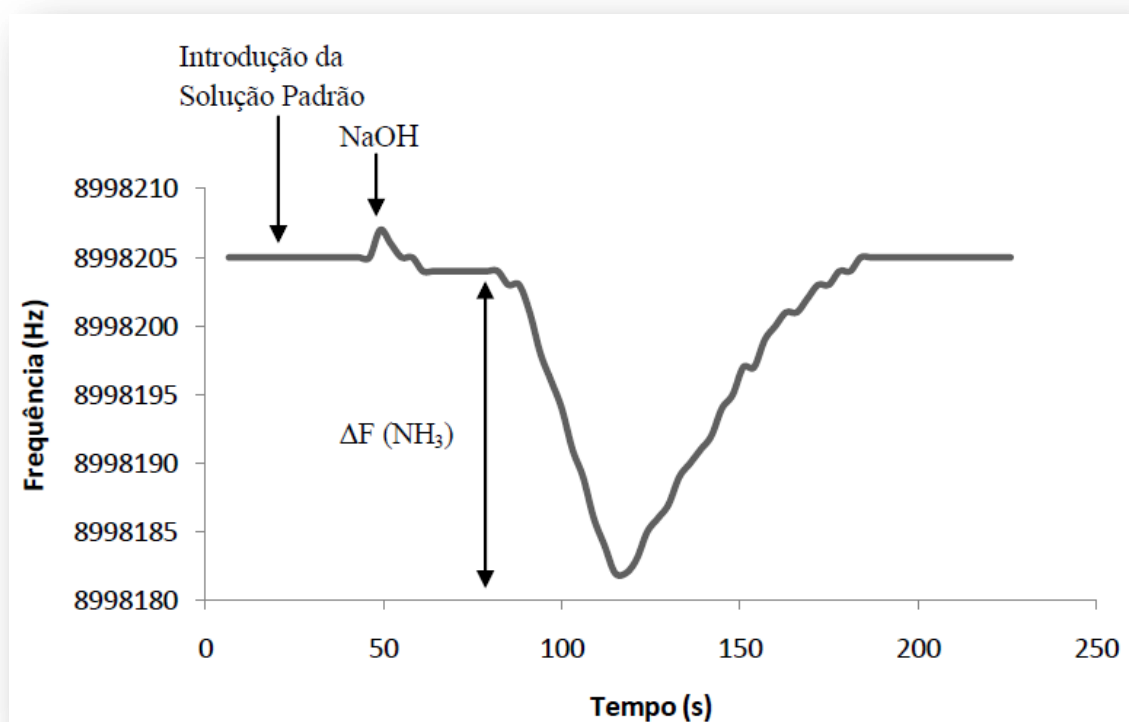


Figura 4.1 – Frequência de um cristal de quartzo após a introdução de 10 mL da solução de NH_3 de concentração $30 \mu\text{g L}^{-1}$.

A reversibilidade da interacção do amoníaco com o revestimento permite que este seja reutilizável e viável. A resposta do sensor é obtida após 80 segundos após a injeção do NaOH, demorando a análise de uma amostra, desde que se injecta o NaOH até o cristal retornar a frequência da linha de base cerca de 2 minutos.

A Figura 4.2 representa uma recta de calibração obtida com um sensor com uma quantidade de revestimento que produziu em decréscimo da frequência de 21,4 kHz.

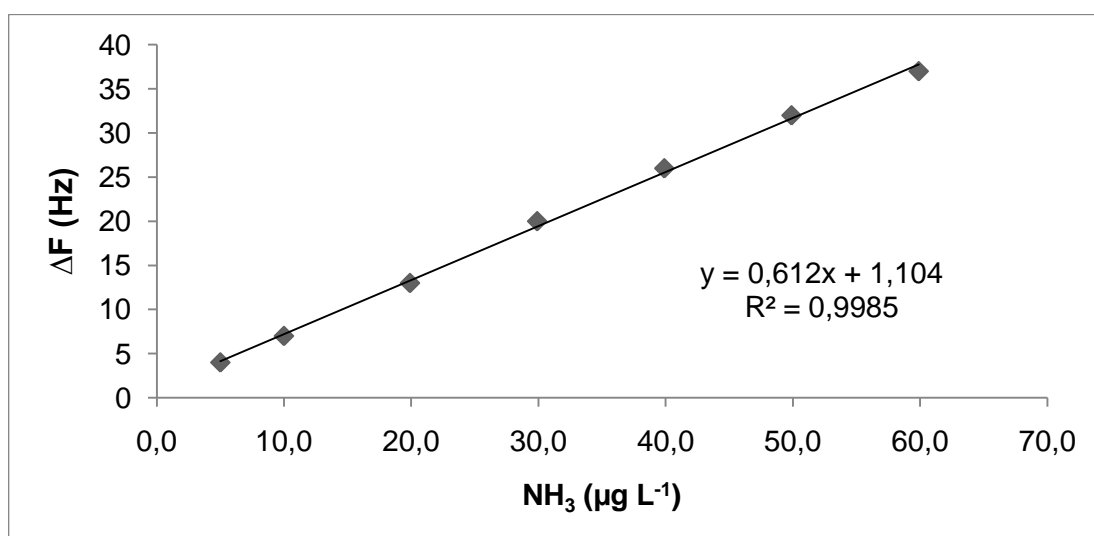


Figura 4.2. – Recta de calibração obtida pelo Método Baseado em Cristais Piezoelétricos.

A Figura 4.2 mostra a faixa linear, onde a sensibilidade é mais elevada. O sensor permite detectar concentrações de amoníaco tão baixas como $1,83 \mu\text{g L}^{-1}$ e quantificá-lo em concentrações desde $4,47 \mu\text{g L}^{-1}$. Para um revestimento de $-\Delta F_{\text{rev}} = 21,4 \text{ kHz}$ o sensor apresenta uma sensibilidade de 612 Hz L/mg na zona de concentração até $60,0 \mu\text{g L}^{-1}$. O limite admissível para o amoníaco em águas ($50 \mu\text{g L}^{-1}$) [11] está precisamente dentro da gama de linearidade do sensor.

Com vista a estudar o tempo de vida do sensor compararam-se os declives das rectas de calibração obtidas ao longo do tempo. Durante a realização experimental, o cristal não foi retirado da célula.

Na Tabela 4.1 mostra-se as equações de calibração do sensor, obtidas ao longo do tempo.

Tabela 4.1 – Equações de calibração do sensor $\Delta F(\text{Hz})$, $[\text{NH}_3]$ ($\mu\text{g/L}$)

Data	Equação da Recta
26 de maio de 2009	$-\Delta F = 0,599 [\text{NH}_3] - 1,455$
8 de Dezembro de 2009	$-\Delta F = 0,608 [\text{NH}_3] - 0,746$
6 de Janeiro de 2010	$-\Delta F = 0,609 [\text{NH}_3] + 0,453$
25 de Janeiro de 2010	$-\Delta F = 0,607 [\text{NH}_3] + 0,364$
1 de Fevereiro de 2010	$-\Delta F = 0,612 [\text{NH}_3] + 1,104$

A partir da Tabela 3.1, pela comparação entre as rectas de calibração obtidas ao longo do tempo pode se confirmar que o sensor baseado em cristais piezoelectricos mantém a estabilidade durante 8 meses.

Através do teste t-student demonstrou-se que os declives das rectas de calibração entre os dias 26 de Maio de 2009 e 1 de Fevereiro de 2010 não são estatisticamente diferentes a um nível de confiança de 95% ($t_{\text{calculado}} = 0,98 < t_{\text{tabelado}} = 2.57$) [51].

4.3. Análise das Amostras

A Figura 4.3 representa a frequência de um cristal de quartzo após a introdução de 10 mL de uma amostra de água com concentração aproximada $30,0 \mu\text{g L}^{-1}$.

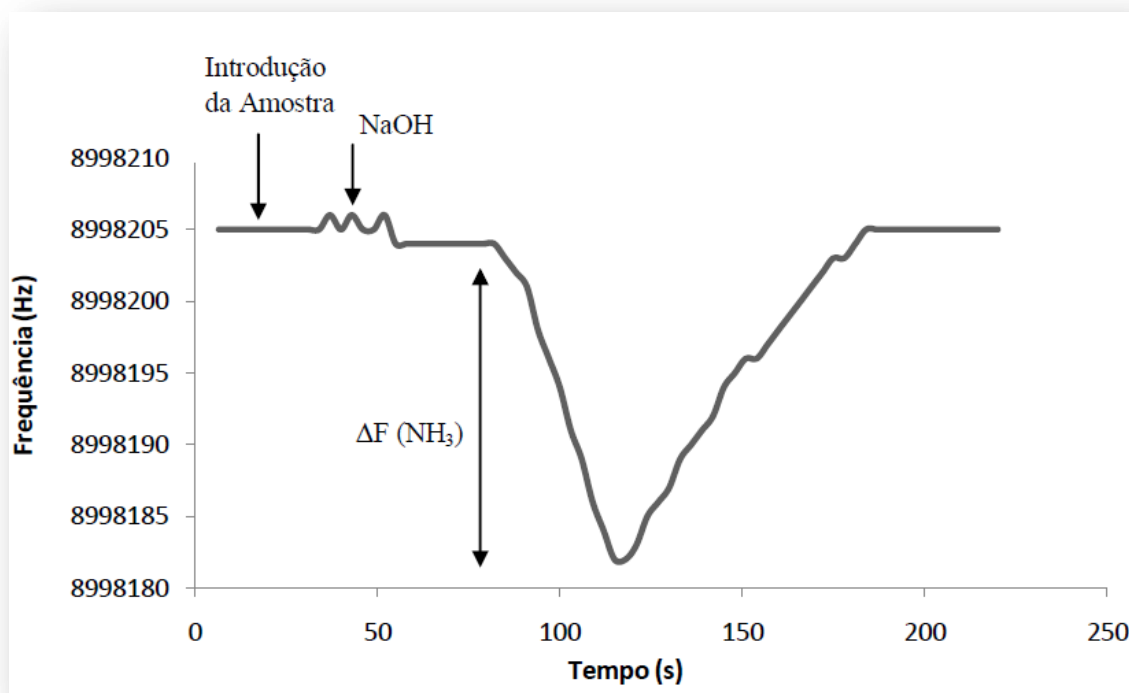


Figura 4.3 – Gráfico Frequência de um cristal de quartzo após a introdução de 10 mL de uma amostra de água.

Como é possível verificar através da figura anterior, após a injeção do NaOH ocorreu um pequeno pico de pressão, tendo-se de seguida verificado que a frequência decresce cerca de 23 Hz. Este decréscimo da frequência deve-se ao facto de a massa sobre o cristal aumentar com a interacção da metaloporfirina com o amoníaco. Com a passagem do azoto pelo sensor, dá-se a dessorção do amoníaco, o que provoca uma subida da frequência.

Para o caso das soluções padrão, o decréscimo da frequência é proporcional à concentração do NH_3 e o gráfico da calibração é obtido entre $5 \mu\text{g L}^{-1}$ e $60 \mu\text{g L}^{-1}$.

4.4. Análise dos Interferentes

O sensor demonstra uma boa sensibilidade em soluções aquosas. Contudo, o trabalho experimental baseou-se na detecção de amoníaco gasoso [52]. A detecção em fase gasosa foi escolhida a fim de reduzir o número de compostos capazes de atingir o sensor e passíveis de causar interferências. Entre os compostos voláteis que poderão chegar ao sensor e que são propensos a interferir, contam-se as aminas [53]. A dietilamina e a glicina são duas das aminas que costumam ser analisadas em águas doces. Portanto, foram adicionadas às soluções de amoníaco de concentração conhecida a fim de testar possíveis interferências na metodologia proposta.

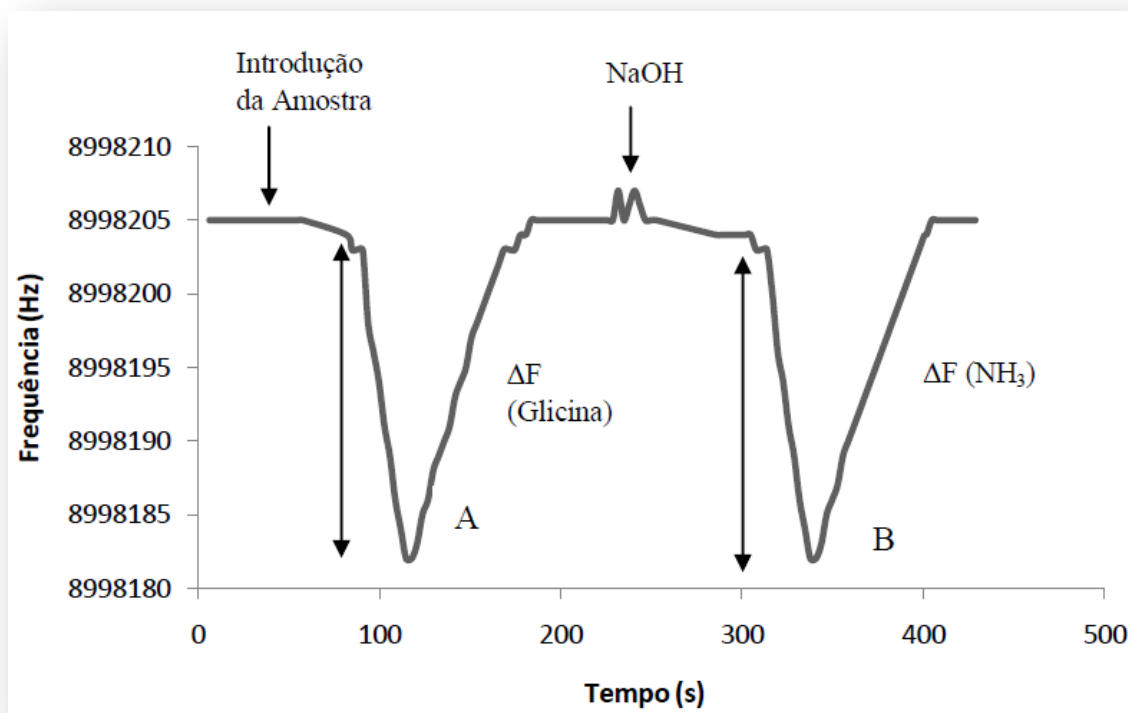


Figura 4.4 - Frequência do cristal de quartzo revestido aquando da análise de uma solução de amoníaco de $1,8 \text{ mmol L}^{-1}$ (30 mg L^{-1}) com $1,8 \text{ mmol L}^{-1}$ de glicina.

A Figura 4.4 mostra a frequência do cristal de quartzo revestido aquando da análise de uma solução de amoníaco de $1,8 \text{ mmol L}^{-1}$ (30 mg L^{-1}) e $1,8 \text{ mmol L}^{-1}$ de glicina. Após a introdução da solução a frequência começou a diminuir, o que indica a presença da amina no cristal revestido, sendo que após 80 segundos se regista a frequência mínima atingida (pico A). De seguida, a frequência do cristal começa a aumentar até ao valor inicial, indicando assim a completa dessorção das aminas da superfície do eléctrodo do cristal. Após se obter estabilidade da frequência foi injectada a solução de NaOH, tendo-se de seguida observado um novo decréscimo da frequência (23Hz) que corresponde ao NH_3 presente (30 mg L^{-1}), sem qualquer interferência da amina. Logo o pico B corresponde ao amoníaco que se apresenta nitidamente distinto do sinal da amina.

A Figura 4.5 mostra a frequência do cristal de quartzo revestido aquando da análise de uma solução de amoníaco de $1,8 \text{ mmol L}^{-1}$ (30 mg L^{-1}) e $1,8 \text{ mmol L}^{-1}$ de dietilamina. O comportamento é muito semelhante ao descrito para a glicina.

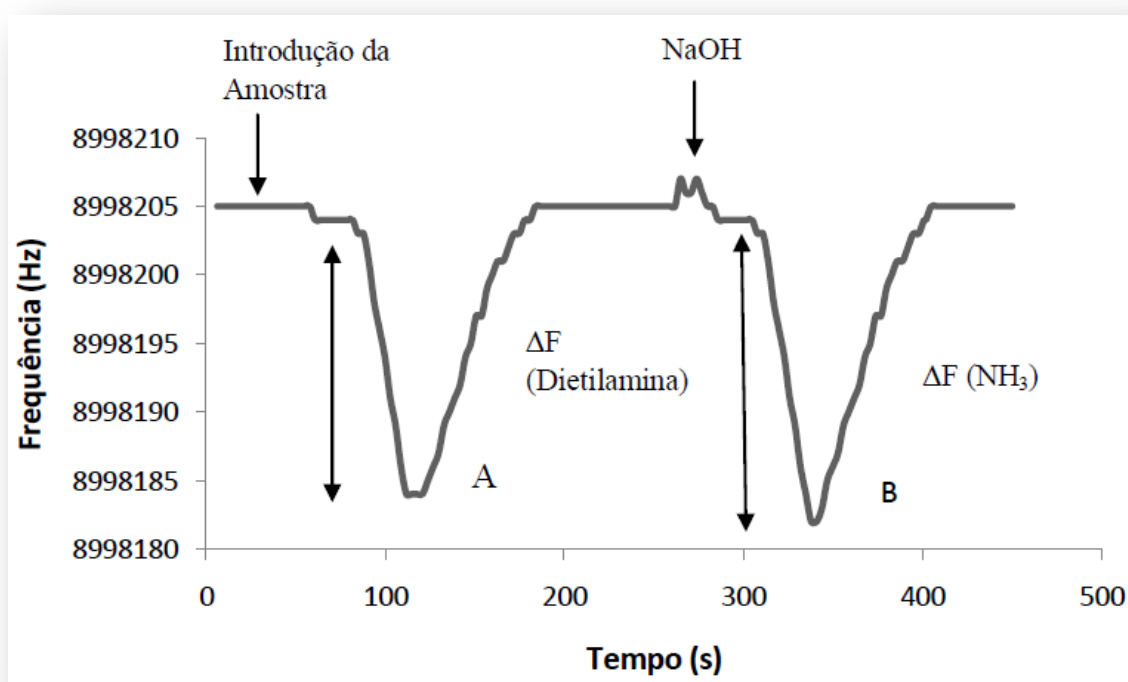


Figura 4.5 - Frequência do cristal de quartzo revestido aquando da análise de uma solução de amoníaco de $1,8 \text{ mmol L}^{-1}$ (30 mg L^{-1}) com $1,8 \text{ mmol L}^{-1}$ de dietilamina.

Os picos A e B em ambas as figuras 4.4 e 4.5 apresentam igual magnitude, o que permite concluir que o sensor detecta aminas e amoníaco com a mesma sensibilidade molar.

4.5. Resultados obtidos na análise das Amostras pelos dois métodos

O novo sensor foi utilizado para determinar a concentração de amoníaco em águas doces. As águas doces como já foi referido anteriormente foram recolhidas a partir de sete poços localizados em duas áreas geográficas localizadas no centro de Portugal, nomeada no distrito de Aveiro (A) e no distrito de Viseu (V). Cinco réplicas de cada amostra foram analisadas, tanto pela nova metodologia que utiliza o sensor piezoeléctrico, como através do método do Azul de Indofenol. 25,00 mL ou 10,00 mL de cada uma das amostras foram retirados e utilizados nos métodos com sensor e do Indofenol, respectivamente.

De modo a testar e comparar o método do Indofenol e o novo método, baseado em microbalanças com cristais de quartzo, foram analisadas as respostas obtidas para as diferentes amostras.

Na Tabela 4.2 mostra-se a média dos resultados das análises acompanhadas do respectivo intervalo de confiança.

Tabela 4.2 – Concentração de amoníaco encontrada para cada uma das amostras. O prefixo A e V identificam os distritos de Aveiro e Viseu, respectivamente.

	NH_3 ($\mu\text{g L}^{-1}$)	
	Método Azul de Indofenol	Sensor
Amostra 1 (A)	$42,3 \pm 1,3$	$42,6 \pm 1,4$
Amostra 2 (A)	$20,0 \pm 1,7$	$20,1 \pm 1,4$
Amostra 3 (V)	$20,7 \pm 1,5$	$20,7 \pm 1,3$
Amostra 4 (V)	$20,4 \pm 1,6$	$20,4 \pm 1,5$
Amostra 5 (V)	$25,9 \pm 1,6$	$25,1 \pm 1,9$
Amostra 6 (V)	$21,9 \pm 1,7$	$22,0 \pm 1,4$
Amostra 7 (V)	$29,6 \pm 1,5$	$29,7 \pm 1,8$

De seguida, procedeu-se à comparação estatística dos resultados obtidos pelos dois métodos.

Fez-se a comparação dos resultados através do teste ***t-emparelhado*** [48], onde o t calculado foi de 0,527. O valor tabelado de t a 95% de nível de confiança para 6 graus de liberdade é de 2,45. Portanto, $t_{\text{cal}} < t_{\text{tab}}$, e é possível afirmar que não existe uma diferença significativa entre os resultados obtidos pelos dois métodos.

Desejou-se também comparar a precisão dos dois métodos analíticos, tendo-se realizado um teste de comparação dos desvios padrão dos resultados obtidos para cada amostra individualmente pelos dois métodos. Para tal, fez-se o teste F , de Fisher [48], que permite realizar a comparação de duas variáveis da seguinte forma: calcula-se o parâmetro F em termos de variâncias dos dois métodos, em que a variância é o quadrado do desvio padrão:

$$F = \frac{S_1^2}{S_2^2}$$

Na Tabela 4.3 encontram-se os resultados obtidos para o F_{cal} para cada uma das amostras.

Tabela 4.3 – Resultados obtidos do teste F , para cada amostra analisada.

	$F_{Calculado}$
Amostra 1 (A)	1,0079
Amostra 2 (A)	1,0015
Amostra 3 (V)	1,0001
Amostra 4 (V)	1,0112
Amostra 5 (V)	1,0049
Amostra 6 (V)	1,0059
Amostra 7 (V)	1,0033

O valor tabelado de F para seis graus de liberdade, $v_1 = 6$ e $v_2 = 6$, é 4,28. Uma vez que o valor calculado para as amostras em todos os casos é inferior ao tabelado, pode-se concluir de uma forma geral que não há diferenças significativas na precisão conseguida com os dois métodos.

4.6. Vantagem do novo método em relação ao método de Azul de Indofenol

O método do sensor apenas necessita de um pequeno volume de amostra, 10 mL, enquanto que o método do azul de indofenol necessita de 25 mL para cada análise. Para além disto o método do indofenol necessita a manipulação de vários reagentes, como uma solução de fenol que é preparada com etanol a 95%, nitroprussianato de sódio, uma solução de citrato alcalino, que consiste na mistura de citrato de sódio e hidróxido de sódio, uma solução oxidante feita com citrato alcalino e uma solução comercial hipoclorito de sódio a 5% e cloreto de amónio. Alguns destes reagentes necessitam de ser preparados diariamente e o nitroprussianato de sódio e o fenol são reagentes tóxicos, sendo que o fenol possui um odor muito característico. No caso do

método do sensor, este apenas necessita da manipulação da solução de cloreto de sódio, como solução padrão e uma solução de hidróxido de sódio.

As análises realizadas com o método do indofenol são bastante mais demoradas do que aqueles onde se utiliza o método do sensor, não só porque neste se manipulam muitos reagentes, tendo muitas soluções que são previamente preparadas, mas também porque o desenvolvimento da cor no método do indofenol necessita de um tempo de espera de cerca de uma hora, após adição dos reagentes à amostra.

Assim, o método do sensor é bastante mais barato que do método do azul de indofenol, não só porque a aparelhagem necessária é menos dispendiosa, no laboratório são menores os custos em reagentes e em tempo do analista.

5. Conclusão

Os sensores baseados na microbalança de cristais piezoelectricos são baratos e de composição simples. Através deste trabalho resultou um sensor para a determinação do NH_3 em águas com excelentes características.

O sensor aqui apresentado foi desenvolvido para amostras de águas destinadas ao consumo humano. O objectivo era substituir os métodos tradicionais por este novo método. Assim, para além da rapidez das análises com o sensor desenvolvido suplantarem o método padrão, estes trazem outras vantagens para o analista em termos de operação, como o facto de se utilizar um pequeno volume de amostra, não ser necessária a manipulação de tantos reagentes, principalmente reagentes tóxicos como o fenol que possui um odor muito característico e o nitropussianato de sódio, e não se ter que preparar soluções diárias, como a solução oxidante utilizada no método Azul de Indofenol. O método Azul de indofenol possui ainda a desvantagem de se ter que esperar pelo desenvolvimento da cor (reacção) que ocorre em cada solução padrão e amostra, tornando assim a análise tediosa e demorada.

O sensor para a análise do NH_3 baseado em microbalança de cristais de quartzo necessita de um passo preliminar de revestimento do cristal. O sensor para além de ser completamente reversível e de permitir obter respostas num curto espaço de tempo, apresenta uma notável estabilidade, que pode ser traduzida numa longa durabilidade. A sensibilidade do sensor não demonstrou nenhuma degradação notável no espaço de oito meses, algo que é raramente encontrado nos dispositivos de onda acústica.

Os resultados obtidos, para um conjunto de amostras de águas analisadas por ambos os métodos, não evidenciam a presença de erros sistemáticos, nem permite dizer que um dos métodos conduz a resultados estatisticamente diferentes do outro.

6. Bibliografia

- [1] S. W. Gibbb, *Handbook of Water Analysis*, Leo M. L. Nollet Marcell, New York, 2000, pp. 223-259
- [2] T. Godish, *Air Quality*, Lewis Publishers, New York, 2004
- [3] C. Shen, S. Liou, *Surface acoustic wave gas monitor for ppm ammonia detection*, Sens. Actuators B 131(2008) 673-679
- [4] X. Liong, T. Zhong, H. Guan, F. Liu, G. Lu, B. Quan, *Ammonia Sensors based on NASICON and Cr₂O₃ electrode*, Sens. Actuator B 136(2009) 479-483
- [5] J. A. Tetlow and A. L. Wilson, *An Absorption Method for Determining Ammonia in Boiler Feed-water*, Analyst 89(1964) 453-465
- [6] B. Timmer, W. Olthuis and A. Vander Berg, *Ammonia sensors and their applications – a review*, Sens. Actuator B 107(2005) 666-677
- [7] O'Neill P., *Environmental Chemistry*, Chapman & Hall, London, 1993
- [8] J.A. Cole, S.J. Ferguson, *The Nitrogen and Sulphur cycles*, University Press, Cambridge, 1988
- [9] <http://nатурlink.sapo.pt/article.aspx?menuid=6&cid=19900&bl=1§ion=2>
(Consultado em 21/10/2010)
- [10] Sarah M. Gray, Peter S. Ellis, Michael R. Grace, Ion D. McKelvie, *Spectrophotometric Determination Ammonia in Estuarine waters by Hybrid Reagent-Injection Gas-Difusion Flow Analysis*, Spectroscopy Laters 39(2006) 737-753
- [11] Decreto Lei n.º 236/98 de 1 de Agosto
- [12] K. Lau, S. Edwards, D. Diamond, *Solid-state Ammonia sensor based in Berthelot's reaction*, Sens. Actuators B 98(2004)12-17
- [13] P. J. Rommers and J. Visser, *Spectrophotometric Determination of micro Amounts of Nitrogen as Indofenol*, Analyst 94(1969) 653-658

- [14] P. L. Searle, *The Berthelot or Indophenol Reaction and Its Use in the Analytical Chemistry of Nitrogen – A Review*, Analyst 109(1984)
- [15] G. Park, H. Oh, S. Ahn, *Improvement of the Ammonia Analysis by the Phenate Method in water and wastewater*, Bull. Korean Chemistry Soc. 30(2009)
- [16] M.W. Weatherburn, *Phenol-Hypocholite Reaction for Determination of Ammonia*, Anal. Chem. 39(1967) 971-974
- [17] A. Aminot, D. S. Kirkwood, R. K  rouel, *Determination of ammonia in seawater by the indophenol-blue method: Evaluation of the ICES NUTS I/C 5 questionnaire*, Marine Chemistry 56(1997) 59-75
- [18] A. I. Vogel, *Análise Química Quantitativa*, 6  ed, L.Tec. Editora, Rio de Janeiro, 2002
- [19] A. S. T. M., *Annual Book of ASTM Standards*, Section 11, Water and Environment Technology, Philadelphia, 1984
- [20] M.L.S.S. Gonçalves, *Métodos Instrumentais de Análise de soluções*, *Análise Quantitativa*, 3   ed     , Funda      Calouste Gulbenkian, 1996, pp.237-291
- [21] American Public Health Association, *Standard Methods for the Examination of Waters & Wastewater*, Centennial Edition, 21      Edition, 2005
- [22] S. Ozawa, P.C. Hauser, K. Seiler, S. Tan, W.E. Morf and W. Simon, *Ammonia-Gas-Selective Optical Sensors Based on Neural Ionophores*, Anal. Chem. 63(1991) 640-644
- [23] S.J. West, S. Ozawa, K. Seiler, S. Tan and W. Simon, *Selective Ionophore-Based Optical Sensors for Ammonia Measurement in Air*, Anal. Chem. 64(1992) 533-540
- [24] S. Tao, L. Xu, J.C. Fanguy, *Optical fiber ammonia sensing probes using reagent immobilized porous sílica coating as transducers*, Sens. Actuators B 115(2006) 158-163

- [25] W. Cao, Y. Duan, *Optical fiber-based evanescent ammonia sensor*, Sens. Actuators B 110(2005) 252-259
- [26] M. Penza, E. Milella, M.B. Alba, A. Quirini, L. Vasanelli, *Selective NH₃ gas sensor based on Langmuir-Blodgett polypyrrole film*, Sens. Actuators B 40(1997) 205-209
- [27] P. Lauque, M. Bendahan, J. Seguin, K. Ngo, P. Knauth, *Highly sensitive and selective room temperature NH₃ gas microsensor using an ionic conductor (CuBr) film*, Anal. Chim. Acta 515(2004) 279-284
- [28] S. Koul, R. Chandra, S.K. Dhawan, *Conducting polyaniline composite: a reusable sensor material for aqueous ammonia*, Sens. Actuators B 75(2001) 151-159
- [29] S. K. Dhawan, D. Kurnar, M. K. Ram, S. Chandra, D. C. Trivedi, *Application of conducting polyaniline as sensor material for ammonia*, Sens. Actuators B 40(1997) 99-103
- [30] R. C. Buchanan, *Ceramic Materials for Electronics – Processing, properties and applications*, 2nd ed., M. D. I. N. York, Hong Kong, 1983
- [31] G. W. G. Taylor, T. R. Meeker, T. Nakamura, L. A. Shuvalov, *Piezoelectricity Ferroelectricity and Related Phenomena*, G.A.B.S. Publisher, 1985
- [32] C. K. O'Sullivan and G. G. Guilbault, *Commercial quartz crystal microbalances – theory and applications*, Biosensors & Bioelectronics 14(1999) 663-670
- [33] B. Jaffe, *Piezoelectric ceramics*, A. Press, London, 1971
- [34] J. Nowotny, *Electronic ceramic materials*, T.T. Publications, Zurich, 1992
- [35] <http://www.cesam.ua.pt/index.php?menu=75&language=pt&tabela=geral>
(Consultado a 25/10/2010)
- [36] R.L. Bunde, E.J. Jarvi and J. Rosentreter, *Piezoelectric quartz crystal biosensors*, Talanta 46(1998) 1223-1236
- [37] J.W. Bender, J. Krim, *Applications of the Piezoelectric Quartz Crystal Microbalance for Microdevice Development*, New York, 2004

- [38] D. A. Buttry, M.D. Ward, *Measurement of Interfacial Processes at Electrode Surfaces with Electrochemical Quartz Crystal Microbalance*, Chem. Rev. 92(1992) 1355-1379
- [39] V. M. Mecea, *Is a quartz microbalance really a massa sensor?*, Sens. Actuators A 128(2006) 270-277
- [40] R.P. Buck, E. Lindner, W. Kunter, G. Inzelt, *Piezoelectric Chemical Sensors*, Pure Appl. Chem. 76(2004) 1139-1160
- [41] R. W. Cattaral, *Chemical Sensor*, Oxford Chemistry Primers, New York, 52(1997), pp. 1-73
- [42] D.H. Wu, T.Y. Tsai, Y.T. Yen, *Robust design of quartz microbalance using finite element and Taguchi method*, Sens. Actuators B. 9(2003) 337-344
- [43] M. T. S. D. R. Gomes, *Desenvolvimento de sensores baseados em microbalanças de cristais piezoelectricos para a determinação de CO₂ e SO₂*, Universidade de Aveiro, 1996 (Tese de Douturamento)
- [44] Sanders et al., *The porphyrin handbook*, A. Press, San Diego, 6(2000)
- [45] M. Biesaga, K. Pyrzynska, M. Trojanowicz, *Porphyrins in analytical chemistry. A review*, Talanta 51(2000) 209-224
- [46] <http://coisautil.com/mapa-de-portugal-para-imprimir/> (Consultado a 03-12-2010)
- [47] A. P. H. Association, *Standard Methods for the examination of water & wastewater*, 21^{sd}, APHA, Washington DC, 2005
- [48] E.U.d.A.E.P Agency, *Methods for chemical analysis of water and wastes*, N.E.R, Cincinnati, 1971
- [49] H. H. Rump, *Laboratory Manual for the examination of water, wastewater and soil*, 3rd, Weinhein, 1999

- [50] J.M.F.M. Pimenta, G.M.S. Neves, J.A.S. Cavaleiro, J.A.B.P Oliveira, M.T.S.R.A. Gomes, *New Sensor Based on a Quartz Crystal Microbalance to Quantify Ammonia Both in Gas on Aqueous Solution – Ibersensors III*, Lima (Peru), 6-8 de Novembro de 2002, pág. 177-178
- [51] James N. Miller & Jane C. Miller, *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, 4th, Prentice Hall, Harlow, 2000
- [52] Vera. L. M. Antunes, M. Graça P. M. S. Neves, M. Teresa S. R. Gomes, *Determination of Ammonium Ion in Water*, Livro de Resumos, Ibersensor 2010
- [53] A. Mirmohseni, A. Oladegaragoze, *Construction of a sensor for determination of ammonia and aliphatic amines using polyvinylpyrrolidone coated quartz crystal microbalance*, Sens. Actuators B 89(2003) 164 – 172

Anexo I

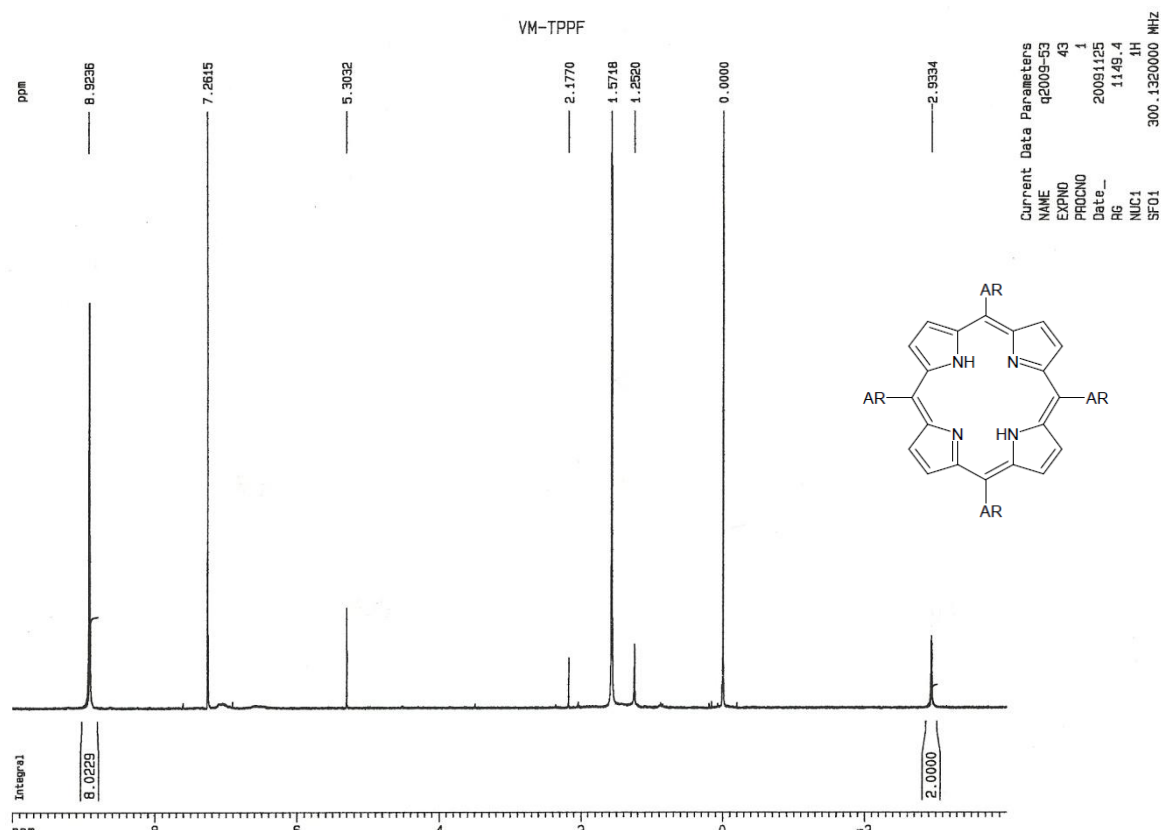


Figura I – Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H da estrutura livre da porfirina

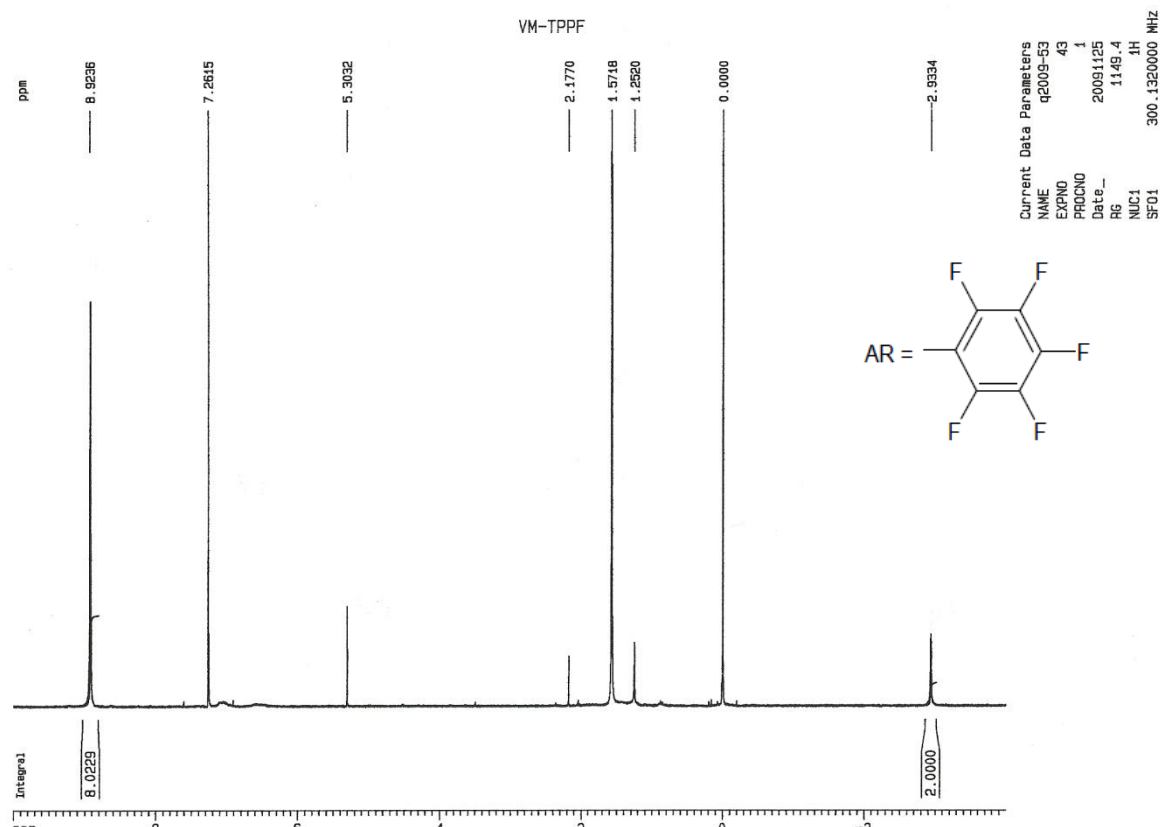


Figura II – Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ^{19}F da estrutura livre da porfirina

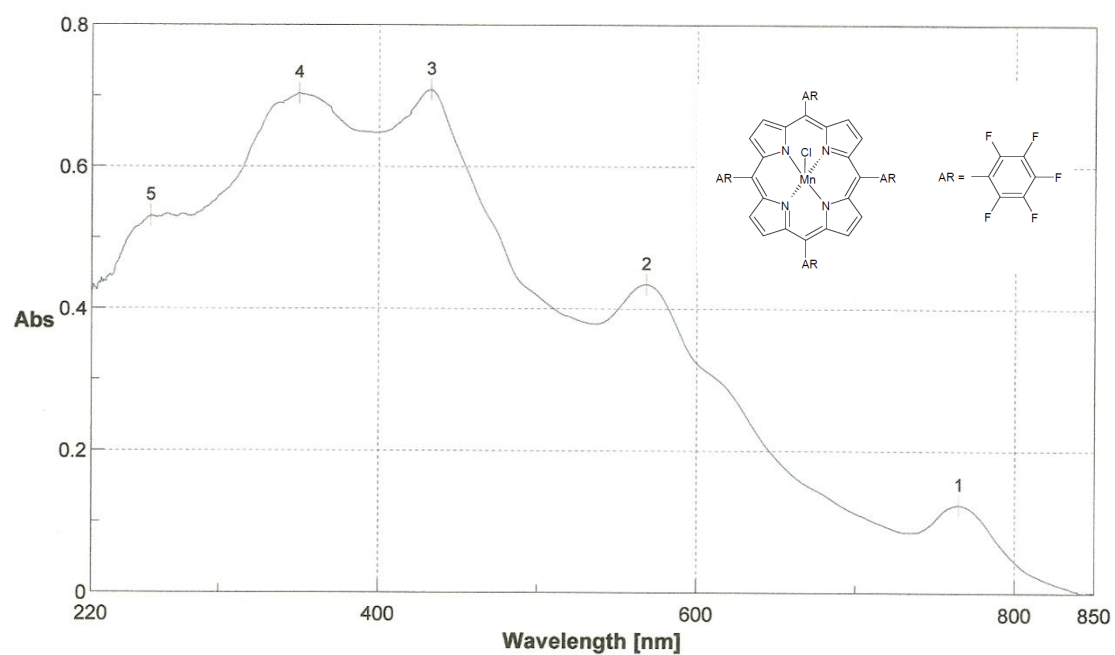


Figura III – Espectroscopia de Ultra Violeta Visível do complexo de manganésio